UNIVERSITÉ DE STRASBOURG – FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934—1935 N° 121

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PARASITES DU PAPIER

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le décembre 1934
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention PHARMACIE)

par

H. W. BAEUMLI
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse:

MM. A. SARTORY, *PROFESSEUR, PRÉSIDENT*
Y. VOLMAR, „
R. SARTORY, *Chargé de fonctions d'agrégé*

STRASBOURG
IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1934

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG – FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1934—1935 N° 121

CONTRIBUTION A L'ÉTUDE DES PARASITES DU PAPIER

THÈSE

Présentée et soutenue publiquement le décembre 1934
A LA FACULTÉ DE PHARMACIE DE STRASBOURG
pour obtenir le grade de DOCTEUR DE L'UNIVERSITÉ
(Mention PHARMACIE)

par

H. W. BÆUMLI
Pharmacien

Examinateurs de la Thèse :

MM. A. SARTORY, *PROFESSEUR, PRÉSIDENT*
Y. VOLMAR, „
R. SARTORY, *Chargé de fonctions d'agrégé*

STRASBOURG
IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG
1934

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

UNIVERSITÉ DE STRASBOURG

FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. LOBSTEIN, *Doyen*, ✻, ✠, I. ✪, ✠
A. SARTORY, *Assesseur*, C. ✻, I. ✪, C. ✠.
CUVIER, *Secrétaire*, A. ✪

DOYEN HONORAIRE

M. JADIN, O. ✻, I. ✪, ✠

PROFESSEURS

MM.	A. SARTORY, C. ✻, I. ✪, C. ✠.	Bactériologie.
	LAVIALLE. I. ✪, ✠	Botanique.
	VOLMAR, I. ✪	Chimie organique.
	LOBSTEIN, ✻, ✠, I. ✪, ✠	Matière médicale.
	GUILLAUME, ✻, ✠, I. ✪, ✠	Pharmacie galénique.
	N. (CORDIER, chargé de cours)	Pharmacie chimique.
	N. (LAPP A. ✪, chargé de cours)	Chimie analytique.

PROFESSEURS HONORAIRES

MM. BRÆMER, ✻, I. ✪, O. ✠
JADIN, O ✻, I. ✪, ✠

CHARGÉ DES FONCTIONS D'AGRÉGÉ

M. R. SARTORY, ✠

COURS COMPLÉMENTAIRES

MM.	SARTORY, A.	Hygiène.
	LAVIALLE	Hydrologie.
	VOLMAR	Chimie minérale.
	LOBSTEIN	Toxicologie.
	GUILLAUME	Zoologie.
	EISENMANN	Législation et Déontologie
	CORDIER	Chimie biologique.
	SARTORY, R.	Cryptogamie.
	LAPP, A.	Physique.

CHEFS DE TRAVAUX PRATIQUES

MM.	SARTORY, R.	Bactériologie et Parasitologie.
	LAPP, A.	Chimie pharmaceutique.
	COLLARD, I.	Chimie et Physique.
	BOHN, A.	Histoire naturelle.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41548008_0053

A LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

A MA MÈRE

A MON FRÈRE ET A MES SŒURS

En témoignage
de ma plus grande affection.

À LA MÉMOIRE DE MON PÈRE

À MA MÈRE

À MON FRÈRE ET À MES SŒURS

En témoignage
de ma plus grande affection.

Au Président du Jury de ma Thèse

A Monsieur A. SARTORY

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Commandeur de la Légion d'honneur

A mes Juges:

Monsieur Y. VOLMAR

Professeur à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Monsieur R. SARTORY

Chargé des fonctions d'Agrégé
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Hommage de respectueuse
et profonde gratitude

Au Président du Jury de ma Thèse

A Monsieur A. SARTORY

Professeur à la Faculté de Pharmacie de Strasbourg
Commandeur de la Légion d'Honneur

A mes Juges :

Monsieur Y. VOLMAR

Professeur à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Monsieur R. SARTORY

Chargé des fonctions d'Adjoint
à la Faculté de Pharmacie
de Strasbourg

Hommage de respectueuse
et profonde gratitude

INTRODUCTION

Dans l'industrie du papier on classe les papiers selon l'usage auquel ils sont destinés. Pour apprécier la valeur de stabilité d'un papier on envisage d'après RICHTER(1) :

1° La tenacité physique de la résistance aux efforts de perforation, traction, pliage et torsion.

2° Le maintien des propriétés physiques et chimiques du papier lorsqu'il est exposé à différents agents destructeurs pendant le magasinage ou la conservation dans les librairies ou collections.

La mesure de l'inertie du papier est quelquefois comparée avec la constance de sa conservation. Un papier pour archives, convenablement relié, consulté seulement occasionnellement, n'a pas besoin de posséder une très forte résistance physique. Il doit résister uniquement aux agents de destruction chimiques ou organiques.

D'autre part, les papiers qui sont exposés à de nombreuses manipulations pendant de longues périodes, exigent une résistance initiale très prononcée qui doit se maintenir pendant longtemps. La longue durée des papiers de chiffons fabriqués depuis plus d'un siècle que l'on oppose au papier de bois au bisulfite ayant une vie relativement très brève, ne prouve pas que les papiers de chiffons fabriqués de nos jours dureront aussi longtemps. Dans de nombreuses circonstances on a pu constater l'instabilité même du papier de chiffons actuellement préparé, dont on attendait une conservation et une durée satisfaisantes.

Les modifications survenues dans la technique de la fabrication du papier depuis un demi-siècle, ainsi que les perfectionnements apportés à la fabrication des pâtes de bois et de chiffons, nécessitent encore une étude approfondie d'où se dégagera seulement la solution des problèmes que se posent les imprimeurs et les archivistes.

L'étude de la conservation du papier a ainsi fait un grand pas en avant sans qu'on soit arrivé à déterminer le facteur essentiel de l'inaltérabilité intégrale des papiers de chiffon fabriqués par les procédés anciens qui nécessitaient une préparation de très longue haleine.

On doit donc étudier les matières premières du papier, car les traitements subis pendant l'épuration de ces substances primaires peuvent affecter la stabilité de la cellulose sans que l'on puisse s'en rendre compte par de simples essais physiques et chimiques. Il serait important de chercher à identifier les constituants auxquels est due la stabilité du papier ou d'essayer d'autre part de caractériser les facteurs favorisant l'altération du papier.

L'influence des agents atmosphériques et des résidus minéraux restant dans la cellulose devrait être déterminée. Il est évident que les conditions de magasinage du papier affectent celui-ci de différentes manières. Dans cet ordre d'idées il faut citer l'influence de l'oxygène, de l'humidité, de la lumière, du gaz carbonique, du gaz sulfureux, de la chaleur sur la décomposition des pâtes cellulosiques.

L'industrie papetière a ainsi pensé résoudre le problème en appliquant différents traitements de contrôle aux papiers pour pouvoir apprécier leur conservation à l'aide d'essais de vieillissement accéléré, susceptibles de mesurer l'inertie chimique de ces produits en présence de réactifs connus.

D'autre part, les effets du vieillissement artificiel du papier au point de vue physique ont été étudiés au moyen de nombreux procédés. L'étude des modifications de la résistance à la perforation et au pliage a été appliquée dans une large mesure.

Mais les procédés chimiques ou physiques n'ont jusqu'à présent pu amener la solution du problème de l'altérabilité prématurée des papiers de fabrications modernes. On a oublié, en effet, le côté biologique de la question. Ainsi des papiers de chiffons d'ancienne fabrication sont toujours réfractaires à l'envahissement parasitaire des bactéries et des champignons, malgré l'absence de toute matière antiseptique chimique dans ces pâtes cellulosiques. Ceci n'est malheureusement pas le cas pour les papiers de fabrication moderne où la transformation des matières premières en

cellulose est réalisée au moyen de procédés chimiques rapides. Il faut donc en premier lieu envisager la préparation de la pâte de chiffons ou de bois et en second lieu la fabrication et la technique du collage du papier.

Ces deux facteurs sont d'une importance capitale dans nos fabrications modernes et rapides, car, comme nous aurons l'occasion de le démontrer, ces procédés fournissent des pâtes écrues ou blanchies très facilement envahies par des micro-organismes, fait très rare chez les papiers d'ancienne fabrication.

C'est l'étude de ce problème qui nous a été posée par notre cher maître M. le Professeur A. SARTORY au cours de ce travail qui a été élaboré et mis au point dans le Laboratoire de Bactériologie et de Cryptogamie de la Faculté de Pharmacie de Strasbourg.

Notre mémoire se divise en deux parties. Nous donnons dans la première l'historique de la question qui constitue le sujet de notre thèse. Le chapitre premier a été destiné à la description générale de la fabrication industrielle de différents papiers. Dans le deuxième chapitre, nous exposons les études antérieures aux nôtres relatives aux champignons cellulophages.

La deuxième partie comprend l'exposé de nos recherches personnelles; tout d'abord nous décrivons dans un exposé général les microorganismes cellulophages que nous avons pu isoler au cours de notre travail.

Le deuxième chapitre est consacré à l'exposé des propriétés cellulophages de ces différents organismes et des techniques et méthodes dont nous nous sommes servi pour mener à bien nos recherches.

Dans le troisième chapitre nous décrivons nos expériences ayant trait à l'action simultanée des différents organismes isolés des papiers et ensemencés par deux ou par trois sur la cellulose pure afin de pouvoir examiner l'action symbiotique de ces différents champignons sur la dégradation de la cellulose.

Enfin, dans un dernier chapitre, nous résumons nos résultats et nous avons essayé de tirer les conclusions qui se dégagent de nos expériences.

Nous prions notre cher maître M. le Professeur A. SARTORY de bien vouloir agréer ici l'expression de toute notre reconnaissance. Sa haute compétence dans la matière et sa longue expérience, ont grandement facilité notre tâche et aplani bien des difficultés qui se sont présentées à nous au cours de ce travail.

Nous adressons également l'expression de toute notre gratitude à M. le Professeur VOLMAR et à M. René SARTORY, chargé des fonctions d'agrégé, qui ont accepté tous deux de faire partie de notre jury de thèse.

Au cours de notre travail, nous avons tiré grand profit de la thèse de doctorat es-sciences de M. René SARTORY (2), où nous avons puisé une large partie de notre historique. C'est un agréable devoir pour nous de dire ici à cet auteur tous nos sincères remerciements à ce sujet.

Notre reconnaissance et nos sincères remerciements à M. J. MEYER, assistant à la Faculté de Pharmacie qui, avec amabilité et bienveillance, a bien voulu nous guider dans nos travaux.

Notre souvenir reconnaissant va aussi à Mlle MAZUR qui s'est toujours intéressée à nos recherches.

PREMIÈRE PARTIE

CHAPITRE PREMIER

La Fabrication du Papier

Déjà dans la haute antiquité on essayait de trouver une matière apte à retenir et à fixer des inscriptions. Le mot « papier » même vient du nom *papyrus* que les Egyptiens donnaient à une matière ligneuse provenant d'une espèce de roseau. Les Romains employèrent dans le même but le liber de différents arbres tels que le tilleul, l'érable ou le platane. Mais les procédés de fabrication du papier remontent à une date beaucoup plus antérieure, car ce sont les Chinois qui fabriquaient une feuille souple, brillante et lisse constituée par un simple feutrage de fibres végétales. On trouve, en effet, des indications qui prouvent qu'un Ministre d'Agriculture chinois, Tsai-Lun, indiquait en l'an 123 avant Jésus-Christ, que le mûrier, le china grass et le bambou, se prêtaient le mieux pour cet emploi. L'industrie de la fabrication du papier a été introduite en Europe par le chemin de la Russie. Les Chinois qui venaient se fixer dans le Turkestan russe ont créé la première usine à Samarkand. Vers la fin du VIII^e^ siècle il existait déjà des fabriques du même genre à Bagdad et à Damas. De là cette industrie se répandit par les Arabes vers l'Afrique du Nord et vers l'Espagne. En 1150 on mentionne une papeterie à Jativa dans l'Est de l'Espagne. C'est alors que l'industrie du papier émigra vers la France et l'Italie. On employait pour cette fabrication des chiffons de lin qu'on mélangeait et broyait entre deux meules.

Après l'invention de l'imprimerie, l'industrie du papier prospéra rapidement et nous trouvons bientôt la France au premier rang en ce qui concerne la qualité et la quantité de cette fabrication. Par l'émigration française après l'édit de Nantes, les secrets de la fabrication française furent transportés en Hollande et à partir de ce moment on assiste à une concurrence commerciale très intense entre la France et les Pays-Bas. Cette industrie prend alors un nouvel essor par l'invention de machines permettant la fabrication mécanique du papier; cette invention a été faite en 1792 par Louis Robert.

Le papier est constitué par une masse de cellulose défibrinée et enchevêtrée.

La cellulose employée provient soit de chiffons de coton et de lin, soit de bois d'épicéa, de châtaignier, de tremble, ou, dans l'Afrique du Nord, d'une sorte de paille, l'alfa.

Autrefois, on employait en France exclusivement les chiffons, aujourd'hui cette matière première est réservée à la fabrication de papiers de qualité supérieure. Jusque dans les derniers temps, on plaçait les chiffons découpés et triés dans de grandes cuves maçonnées qu'on appelait « pourrissoir ». Dans ces récipients les chiffons étaient attaqués par des microorganismes et par cette fermentation bactérienne, les fibres cellulosiques se désagrégeaient et on obtenait la cellulose pure blanchie. A ce moment, on coupait les fibres au moyen de faux en charpies et finalement celles-ci étaient transformées par l'action de l'eau en une bouillie (par l'intermédiaire de marteaux en bois).

L'emploi du bois pour l'industrie du papier date d'environ un siècle. Le bois coupé en rondins est ensuite réduit en petits fragments et traité dans les lessiveuses, sortes de hautes tours, au moyen de solutions de bisulfite de chaux, à une température élevée. Les fibres ainsi obtenues sont encore désagrégées par des machines spéciales pour fournir finalement après blanchissage une pâte constituée par de la cellulose pure, qu'on appelle dans le commerce « la pâte chimique » ou « pâte au bisulfite ».

D'autre part, on utilise encore pour des papiers de qualité inférieure des pâtes appelées « mécaniques » qu'on obtient en râpant simplement les rondins de bois au moyen

de meules de pierres dures, contre lesquelles le bois est comprimé par des presses hydrauliques. Les charpies sont ensuite triées à travers de grandes passoires et entraînées par un courant d'eau. La pâte ainsi obtenue était autrefois diluée et placée par un ouvrier dans une cuve au moyen d'un récipient rectangulaire, « la forme », constitué par une toile métallique.

Après égouttage et compression on séchait les feuilles de papier ainsi préparées et on les trempait ensuite dans une solution chaude de gélatine. On séchait à nouveau et on obtenait ainsi le papier fabriqué à la main. Aujourd'hui, on utilise encore ce procédé pour des papiers de première qualité destinés aux éditions de luxe, aux papiers timbrés, aux billets de banque.

Toutes les opérations pour les papiers ordinaires par contre, se font actuellement au moyen de machines. On emploie de grandes lessiveuses cylindriques ou sphériques, tournant automatiquement et chauffées à la vapeur. Les charpies de chiffons ou de bois sont désagrégées par passage entre des lames insérées sur un cylindre tournant et d'autres lames fixes, affleurant les premières. Les fibres cellulosiques sont ensuite entraînées par des courants d'eau dans des cuves remplies de solution de chlorure de chaux ou d'un autre oxydant, pour le blanchissage.

Quand la pâte est ainsi finie, il faut la transformer en papier buvard par des procédés que nous avons déjà indiqués. Après la dessiccation de celui-ci, on procède au collage qui a pour but de rendre le papier imperméable et de l'empêcher de boire l'encre. A cet effet, on emploie soit des colles de gélatine, soit des colles à base de résine.

Nous donnons ici brièvement les différentes phases de *la fabrication du papier à la mécanique en continu* employée aujourd'hui couramment. Cette industrie utilise des machines à grand rendement et roulant à grande vitesse, mais sauf la rapidité de la fabrication et la suppression de la main-d'œuvre proprement dite, rien n'a été modifié au principe de la confection du papier, excepté le traitement par fermentation dans les pourrissoirs, qui était utilisé pour décomposer les chiffons en matière cellulosique pure.

Cette fabrication comprend donc les opérations suivantes :

1° La désinfection des chiffons et des autres matières premières au moyen de gaz sulfureux ou de vapeurs à haute pression ou en présence de trace de chlore.

2° Le battage et le triage des matières premières.

3° Le délissage destiné à découper et à diviser toute la matière première en charpies et en tout petits morceaux à l'aide de faux ou au moyen de machines «coupe-chiffons».

4° Le blutage enlève mécaniquement les poussières.

5° Le pourrissage dont nous avons déjà parlé et qui est abandonné aujourd'hui.

6° Le lessivage enlève à l'aide de lessive de chaux et de soude les substances grasses des fibres cellulosiques.

7° L'effilochage, le broyage et le défilage ont pour but de séparer complètement les unes des autres les fibres cellulosiques en présence d'une grande quantité d'eau.

8° L'égouttage et le blanchiment : à cet effet il faut débarrasser complètement les matières premières des substances alcalines ayant été employées au cours du lessivage. On procède ensuite au blanchiment au moyen de chlorure de chaux ou de chlorure de magnésium.

9° Le grand lavage destiné à débarrasser les fibres cellulosiques blanchies, des dernières traces de chlore. Les matières ainsi obtenues constituent les pâtes, dont nous avons déjà parlé antérieurement.

La fabrication du papier proprement dite :

Comme nous l'avons déjà exposé, on distingue les papiers fabriqués à la cuve ou en continu.

La préparation à la cuve faite à la main a déjà été décrite.

La manufacture en continu inventée par Louis Robert (3) comprend les différentes phases suivantes :

1° L'épuration, qui enlève mécaniquement les corps étrangers.

2° L'égouttage au moyen de toile métallique sans fin, déplacée suivant des mouvements latéraux de va et vient, destinés à faire égoutter les eaux de lavage et à croiser les fibres pour obtenir le feutre.

3° L'aspiration au moyen de caisse à vide et l'essorage par compression sur un feutre en toile au moyen de cylindres tournant en sens inverse.

4° Le chauffage complet, la dessiccation du papier qui passe sur des cylindres métalliques alimentés en vapeur.

5° L'enroulage, le coupage, le bobinage terminent ainsi le *papier non collé* destiné à l'expédition et aux stockages.

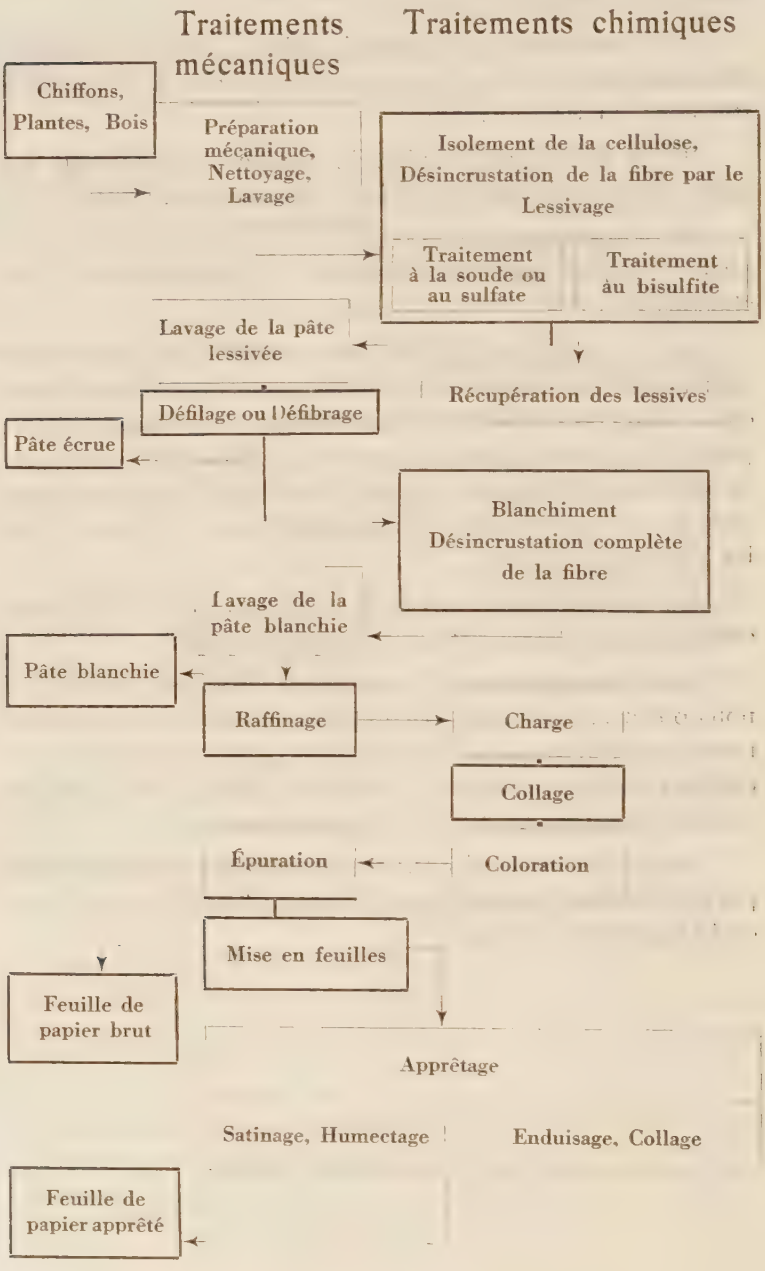
6° Le collage est d'après WIESNER (4) un procédé très ancien effectué autrefois à l'aide d'amidon. Depuis le XV^e^ siècle on a remplacé l'amidon par les matières les plus diverses : poix, cire, caséine, résine et gommes ; actuellement on se sert de gélatine additionnée d'un antiseptique (formol ou alun) pour les papiers des meilleures qualités, ou de résines pour les papiers ordinaires.

La résine a l'avantage de ne jamais moisir. On distingue encore l'encollage en surface et dans l'épaisseur.

Nous tenons encore à mentionner que les papiers qui nous ont servi au cours de ce travail et dont nous avons pu isoler les champignons cellulophages, sont des papiers à chiffons collés au moyen de solution gélatineuse, fabriqués soit mécaniquement, soit par la main-d'œuvre.

Dans le tableau qui suit, nous donnons un schéma indiqué par CHENEVIER (5) qui résume clairement les différentes phases de la fabrication du papier.

Schéma des opérations principales de la fabrication du papier à partir de la cellulose d'après CHENEVIER :



Il existe donc deux catégories de papier suivant les procédés de fabrication :

1° les papiers sans collages constituent donc en quelque sorte des papiers buvards.

2° Ces papiers sans colle sont d'autre part immergés dans des bains de gélatine (colle) pour les rendre imperméables à l'encre et aux autres liquides ou colorants.

Le collage n'est habituellement pas effectué immédiatement après la fabrication du papier sans colle, mais avec un intervalle qui varie de quelques jours à plusieurs mois. La matière gélatineuse employée est soit de la colle forte en solution faible ou, plus souvent, des substances gélatineuses fabriquées directement par les usines à papier et extraites de peaux, d'os d'animaux et d'autres substances organiques.

Il va de soi que les usines qui fabriquent des papiers fins, emploient aujourd'hui des gélatines préparées spécialement avec les plus grands soins et des techniques scientifiquement établies qui fournissent des produits à point de liquéfaction exactement déterminé et supportant des acidifications et des alcalinisations à des pH exactement fixés.

Mais pour l'économie commerciale ces gélatines sont habituellement remplacées par des colles fabriquées directement dans les usines à papier. Les matières premières utilisées à cet effet sont toutes naturellement fortement contaminées par des microorganismes, et le chauffage de 40 à 50° au maximum, pour faciliter l'extraction des matières gélatineuses, ne suffit pas pour tuer tous ces germes qui existent ordinairement sous forme de spores de conservation et qui offrent par conséquent une résistance très prononcée aux différents antiseptiques qu'on emploie habituellement pour stériliser les colles. A cet effet, dans l'industrie papetière, on utilise habituellement de très faibles doses de bichlorure de mercure, de l'alun, du savon blanc, de suif. Quelques fabriques ajoutent encore de très faibles doses d'iode sous forme d'iodure de potassium pour combattre la pullulation de germes cryptogamiques. Après le mélange de la solution gélatineuse avec ces antiseptiques, on procède ordinairement à un chauffage unique jusqu'à +95°.

Il est de toute évidence, et nous allons le démontrer dans la deuxième partie de notre travail, que l'incorporation de

ces antiseptiques ainsi que le chauffage faible ne suffisent pas pour stériliser ces colles. Ceci constitue donc un premier facteur à envisager si on veut empêcher la détérioration du papier mis plus tard dans le commerce, et nous aurons l'occasion au cours de notre travail de revenir sur ce sujet. Dans une série de recherches effectuées simultanément avec les nôtres dans les Laboratoires de Bactériologie de la Faculté de Pharmacie, WIDDER (6) a analysé l'action inhibitrice et destructrice de différents antiseptiques sur le développement des différents microorganismes qui se trouvent par le fait sus-mentionné très souvent dans les papiers industriels. Cet auteur a pu différencier un certain nombre d'antiseptiques qui, employés à de faibles doses et sous forme de mélanges, donnent des résultats très favorables pour stériliser les colles; ces substances peuvent donc rendre de grands services à l'industrie papetière.

Un second facteur de contamination dans la fabrication des papiers se trouve ensuite dans l'apprêt de la cellulose elle-même. En effet, après le nettoyage et le défibrement des chiffons, on procède au blanchiment de la cellulose au moyen d'hypochlorite de chaux. On a donc ainsi effectué une sorte de javellisation des fibres cellulosiques qui, à cet état, possèdent un maximum de stérilité. Mais dans les usines on procède ensuite au lavage de la cellulose pour enlever les dernières traces de chlore qui pourraient nuire à la confection définitive du papier. Ce rinçage est ordinairement effectué au moyen d'eau de rivière, très grossièrement filtrée, et renfermant par conséquent une notable quantité de germes bactériens. Après avoir eu ainsi une cellulose absolument aseptique, on la contamine de nouveau lors de cette déchloruration.

Pour les papiers collés, nous retenons ensuite une troisième période de contamination pendant la fabrication des papiers dans l'industrie. Le papier buvard ayant été préparé et séché, est ensuite passé à travers de solutions gélatineuses et suspendu dans des grands séchoirs bien aérés. Il est tout à fait naturel que les vents et l'air qui passent à travers ces séchoirs, amènent une certaine proportion de germes bactériens qui se déposent sur les surfaces humides des papiers, et la couche gélatineuse fournit naturellement un milieu nutritif extrêmement favorable pour l'évolution ultérieure des ces micro-

organismes, si les colles n'ont pas été munies au préalable d'antiseptiques efficaces capables de protéger les papiers.

Ces trois facteurs constituent donc lors de la fabrication du papier les points faibles permettant la détérioration et la destruction ultérieures des papiers de cellulose et si on veut en étudier les différentes causes et expérimenter les germes qui interviennent dans cette destruction cellulosique, c'est à ces trois stades de la fabrication du papier qu'il faut prêter son attention et c'est à ces périodes qu'il faut effectuer les prélèvements pour déterminer les espèces bactériennes et cryptogamiques qui peuvent intervenir dans la destruction du papier.

Les prélèvements que nous avons ainsi effectués, nous ont permis d'isoler et d'étudier les germes effectivement cellulophages d'un côté, et les microorganismes saprophytes qui végètent à la surface du papier uniquement au niveau de la couche superficielle de gélatine et qui sont incapables d'attaquer et de détruire la cellulose.

Avant de commencer l'exposé de l'étude des caractères morphologiques et biologiques de ces champignons cellulophages, occasionnant de véritables maladies cryptogamiques des papiers, nous tenons cependant à donner un court historique sur les champignons cellulophages en général ayant été étudiés avant notre travail.

Chapitre II

La dégradation de la cellulose par des champignons inférieurs

Dans le chapitre précédent nous avons eu l'occasion d'exposer les différentes manipulations et techniques employées au cours de la fabrication du papier. Nous avons démontré qu'il faut envisager pour la recherche des parasites cellulophages en premier lieu la préparation de la pâte de chiffons même et en second lieu la technique du collage du papier. Ces deux facteurs sont d'une importance capitale dans nos fabrications modernes rapides, car comme nous aurons l'occasion de le démontrer, ces procédés fournissent des pâtes écrues ou blanchies très facilement envahies par des microorganismes, fait plus rare chez les papiers d'ancienne fabrication. Dans beaucoup de papeteries, en effet, on a constaté sur la cellulose stockée, à l'état humide, le développement de colonies de moisissure qui, presque invisibles pendant le premier stade de leur développement, se manifestent ensuite sous forme de petites taches sombres ou verdâtres qui avec le temps se réunissent pour former une nappe continue de couleur variable suivant la variété des champignons qui y végètent. Ces taches dues aux moisissures ne peuvent être enlevées par des acides ou des autres réactifs chimiques, nous avons donc affaire à une véritable maladie cryptogamique du papier. Il est alors intéressant de donner ici un court exposé sur les travaux antérieurs en ce qui concerne les champignons susceptibles de produire des mycoses végétales et en nous rapportant aux travaux antérieurs, et principalement à ceux de R. Sartory, nous avons pu retenir les faits suivants :

La destruction de grandes quantités de cellulose qui a lieu du fait de la pourriture humique, et les phénomènes de digestion que l'on constate chez certains herbivores ont attiré particulièrement l'attention sur l'activité des bactéries auxquelles on doit attribuer ces phénomènes. Depuis quelque temps on avait pu établir que ces bactéries sécrétaient des enzymes spéciales capables de transformer la cellulose en produits solubles du type des sucres simples, comme le cellobiose et le glucose capables à leur tour de fermenter avec formation d'acide et de gaz. Cependant, il n'a pas encore été possible d'identifier avec certitude les produits intermédiaires de la transformation, et, par conséquent, de les déterminer quantitativement.

Suivant Löhnis (7), qui s'est occupé tout récemment de la question, la décomposition de la cellulose par l'action des bactéries, des actinomycètes et des moisissures, peut avoir lieu en présence ou en l'absence d'air, avec production de substance colorée brune ou noire qui donne à la cellulose particulièrement décomposée l'aspect caractéristique des substances humiques : assertion partiellement erronnée, comme on le verra par la suite.

Généralement les techniciens du papier admettent que la cellulose moisie ne subit qu'une dépréciation modique, par suite de la formation de moisissure sur la cellulose, parce qu'ils savent que les taches produites disparaissent généralement avec le travail de la pâte et qu'en fin de compte, elles ne sont pas apparentes sur la feuille de papier.

D'autre part, il est difficile de constater une perte de bois durant le stockage des mi-pâtes humides. Par contre il n'est pas rare qu'on puisse attribuer à la même cause une moins grande durée de la feuille, par suite du développement des moisissures, ce qui donne lieu à des réclamations chez le fabricant de papier.

Dans ce cas, les spores ont résisté au traitement de fabrication dans les piles raffineuses et sur la machine, ont ensuite germé sur la feuille, par suite de son humidité naturelle ou de gouttes d'eau tombées accidentellement.

Drechsler (8) cependant expose les résultats de ses recherches personnelles, qui tendent à démontrer comment la moisissure peut endommager les fibres cellulosiques sans

apport de substances nutritives spéciales et comment elles occasionnent des dépréciations de qualité qui sont loin d'être négligeables.

Dans ses essais, l'auteur employait des celluloses au bisulfite, soit blanchies, soit écrues, n'y ajoutait aucune substance nutritive et opérait en milieu complètement stérile. Dans ces conditions, il est probable que les moisissures tirent leur nourriture d'une impureté particulière de la cellulose, et que leur développement doit dépendre de la présence d'une substance déterminée ou d'une valeur spéciale de la concentration en ions hydrogènes (pH). Enfin, il est reconnu qu'en présence de substances déterminées, les moisissures prolifèrent mieux, forment des filaments plus robustes et exercent une action de décomposition plus énergique.

Les variétés de moisissures employées par DRECHSLER se divisent en deux groupes : le premier, comprenant 7 variétés, fut tiré de la collection du professeur PŘIBRAM de Vienne; le second groupe de moisissures, constitué par 8 variétés, fut retiré d'une cellulose humide recueillie dans une papeterie. Ces espèces furent isolées par des moyens de culture appropriés et reconnues principalement par la coloration de leurs filaments.

L'infection d'une cellulose par des moisissures peut provenir de l'eau de fabrication ou de l'air ambiant; dans le premier cas, on trouve les spores uniquement à l'intérieur de la couche fibreuse et elles se développent ensuite vers l'extérieur; dans le second cas, la moisissure se répand surtout en surface et ne pénètre que faiblement dans l'épaisseur de la couche. Dans les deux cas, les moisissures ont la même couleur et leur développement n'est pas considérable.

Quant au contraire l'infection est due au contact du sol, du pavage des murs des magasins, les moisissures produites sont plus étendues et de couleurs variées, les substances étrangères restées adhérentes à la cellulose du fait du contact que cette dernière a pu avoir avec le sol, les murs, etc.... peuvent servir de nourriture aux microorganismes et rendent leur développement plus rapide et plus ample.

Les données les plus anciennes sur la dissolution de la cellulose par des microorganismes remontent à MITSCHERLICH (9), un peu plus tard POPOFF (10) continue dans la voie

de Mitscherlich et réussit à obtenir une fermentation par le contact du polysaccharide avec des boues d'égouts, il met en évidence comme terme ultime, de l'anhydride carbonique et du méthane. Mais les travaux fondamentaux qui ouvrent véritablement la voie dans cette orientation sont fournis par les publications de Tappeiner (11) qui, le premier, a nettement démontré que la décomposition cellulosique est d'origine bactérienne. Un peu plus tard, De Bary (12) attira l'attention sur la dissolution obtenue par les champignons. A partir du commencement du XX^e siècle, débute alors une série de travaux qui cherchent surtout à étudier les transformations profondes se passant dans le sol et dans le fumier et dans lesquelles la cellulose a sa place toute marquée. Berthelot (13) a démontré que, dans la composition du fumier, c'est surtout la cellulose qui est altérée. En même temps Gayon (14) prouva que la responsabilité du phénomène incombe à des microorganismes, il réussit même à isoler une bactérie anaérobie qui décompose la cellulose avec production d'anhydride carbonique et de méthane. Aujourd'hui, on peut admettre que les recherches de Gayon ont été pratiquées non avec une espèce pure, mais avec un complexe de microorganismes. Deherain (15), en inoculant un milieu minéral avec du purin, a aussi pu constater que la cellulose présentée était décomposée avec formation de méthane et d'anhydride carbonique; néanmoins les expériences de Holdefleiss et Schönfelder (16) d'un côté, de Mayer (17) de l'autre, ont démontré que dans la composition du fumier, ce sont surtout les pentosanes et seulement, en quantité minime, la cellulose qui subissent une transformation. Hoppe-Seyler (18) trouve que la fermentation de la cellulose obtenue par des boues d'égouts repose sur l'activité du *bacillus amylobacter* et il croit que la cellulose se transforme par cette fermentation en hydrate de carbone (sucres), substances qui, avec ou sans formation de produits intermédiaires, se décomposent en méthane et anhydride carbonique. Grâce aux travaux de Schlœssing père (19) sur les gaz formés au cours de la fermentation du fumier, Berthelot est amené à conclure, qu'il s'agit d'une décomposition cellulosique donnant de l'anhydride carbonique et du méthane. Van Senus (20), qui étudie la fermentation cellulosique et

les produits intermédiaires de la dégradation, ne peut caractériser aucun hexose, ni pentose, il énonce déjà l'hypothèse suivant laquelle les bactéries hydrolisaient immédiatement les hydrates de carbone solubles produits au cours de leur action. Il réussit à isoler de l'intestin du lapin deux bactéries : le *bacillus amylobacter* et un autre petit bâtonnet dont l'action simultanée est nécessaire pour l'attaque de la cellulose. Les premières expériences sur l'action des bactéries thermophiles vis-à-vis du polysaccharide dans le sol ont été mises en œuvre par Mac Fayen et Blaxall (21). Ces auteurs ensemençaient une solution minérale renfermant des petites quantités de bouillon au moyen de terre, ils expérimentèrent à des températures allant jusqu'à 60° et ils observaient alors une décomposition de la cellulose accompagnée d'un dégagement gazeux très prononcé, la destruction de la cellulose était un peu plus forte en anaérobie qu'en aérobie. Comme termes finals ils ont obtenu de l'anhydride carbonique et du méthane; à 37° l'attaque de la cellulose et la fermentation n'étaient plus sensibles.

Ces constatations ont bientôt été vérifiées et le phénomène étudié en tous détails par Oméliansky (22), qui isola du limon de la Newa des bactéries cellulophages anaérobies et thermophiles; il pratiquait des ensemencements sur un milieu électif donné par Winogradsky (23) et réussit à obtenir la transformation de la cellulose par deux bacilles qu'il isola : il appela le premier : *bacille de la fermentation* hydrogénée et le deuxième : *bacille de la fermentation méthanique;* de ces deux organismes le dernier produit une décomposition de la cellulose à basse température, tandis que le premier est un thermophile; l'auteur réussit à séparer l'action des deux bactéries par le procédé suivant : il introduisait dans un ballon des produits renfermant de la cellulose tels que papiers, coton ou lin, etc..., de la craie et le milieu suivant : phosphate d'ammonium 0,1 phosphate dipotassique 0,1; sulfate de magnésie 0,05 ; des traces de chlorure de sodium pour 100 cc. d'eau. Il remplissait le ballon complètement au moyen de cette solution et l'ensemençait avec du crottin de cheval. On obtient alors généralement la fermentation méthanique de la cellulose. Si, par contre, il pratique les ensemencements en chauffant le milieu et le matériel

pendant 15 minutes à + 75°, la fermentation méthanique est arrêtée et il obtient la production d'une fermentation hydrogénée de la cellulose; la quantité de cellulose qui disparaît dans ce cas atteint 90 °/₀: on voit donc qu'elle est considérable. Ces bactéries agissent seulement en anaérobie. Un grand pas en avant dans l'étude de la dégradation de la cellulose dans le sol et le fumier est marqué par les travaux de Van Iterson (24). Il écrit que de fortes quantités de cellulose provenant des feuilles mortes, des branches tombées, du papier, des toiles de lin, etc... se trouvent constamment mélangées avec la terre; ces substances disparaissent, comme on le sait, très vite et presque complètement sans laisser de trace; cette destruction de la cellulose dans le sol se fait d'après lui par quatre processus différents.

I. Le processus en anaérobie qu'il divise en deux parties.

II. Le processus en aérobie que l'auteur divise aussi en deux parties.

Anaérobies : 1° agissant en présence de nitrates; 2° agissant en l'absence de nitrates ou bactéries dénitrifiantes.

Aérobies : 3° en solution alcaline : bactéries; 4° en solution acide : les champignons.

C'est surtout les trois derniers cas dans lesquels la décomposition de la cellulose s'est faite par des microbes aérobies que Van Iterson a examinés; comme matière d'ensemencement il a employé de la terre de jardin et des boues vaseuses, de l'humus et des feuilles sèches. Après trois à cinq jours, il constate des taches jaune-brun sur le papier ou sur la cellulose ajoutée qui bientôt sont complètement décomposés; il isole par ces procédés une bactérie cellulophage en forme de bâtonnet auquel il donne le nom de bacillus ferrugineus; en même temps il trouve aussi un microcoque. Sous l'action du bacille, la cellulose prend une consistance pâteuse et la fibre cellulosique s'entoure complètement d'un mucus. Pour faire la preuve que, dans la décomposition de la cellulose dans la nature, le bacille isolé joue un rôle spécifique, l'auteur enterre dans le jardin botanique du Laboratoire à une profondeur de 15 cm. de la toile de lin et des feuilles de papier filtre; cinq mois après, les feuilles de papier filtre avaient complètement disparues dans la terre,

tandis que la toile existait encore; mais elle avait perdu toute sa cohésion et se désagrégeait en petits morceaux dès qu'on la touchait. Van Iterson réussit par sa méthode d'isolement à mettre en évidence sur ces prélèvements, restes du matériel enterré, son bacillus ferrugineus.

Les travaux sur les bactéries aérobies cellulophages ont été poursuivis par Rossi, Grazia de Capraris (25) qui a pu isoler le *bacillus comesii*, lequel décomposait la cellulose en présence de nitrates et le *bacillus vulgatus* qui agissait sans nitrates. Beijerink et Minkmann (26) ont obtenu, en employant aussi des boues vaseuses, une décomposition cellulosique par des bactéries dénitrifiantes; l'une est appelée bacillus nitrogène; en poursuivant ces travaux, Beijerink a démontré que le *clostridium américanum* et *l'azotobacter* sont incapables en cultures pures d'attaquer la cellulose; il a trouvé vivant en symbiose avec ces organismes le *bacillus radiobacter* qui attaque fortement la cellulose en produisant de l'hydrogène comme terme final, cette symbiose a occasionné, par la présence de la cellulose, un enrichissement en matière azotée du milieu. Heinze (27) a pu prouver les mêmes faits en mettant l'azotobacter en présence de bactéries cellulophages.

Nous arrivons à présent aux travaux d'une importance capitale de Pringsheim (28) qui étudia les différentes formes de la dégradation de la cellulose du sol et du fumier; il classe ces phénomènes en quatre groupes.

L'auteur, en expérimentant ces différents processus d'hydrolyse, a réussi à mettre en évidence les produits intermédiaires; c'est-à-dire des di- et monosaccharides résultant de l'action des endoferments produits par ces différentes catégories de bactéries.

Nous passerons à présent en revue les recherches de Mütterlein (29) qui nous a été d'un grand secours pour notre bibliographie. Cet auteur a démontré que la décomposition de la cellulose dans le sol, le fumier et dans la nature en général, est surtout due à des organismes vivant en aérobie, malgré l'opinion généralement admise que ce sont des bactéries anaérobies qui assument la transformation pour la plus grande partie des produits cellulosiques; il a prouvé que la température joue un rôle prépondérant dans le processus du

phénomène, et de ses recherches il ressort que la décomposition cellulosique à température élevée s'effectue non seulement par des bactéries anaérobies, mais encore, et pour une forte proportion, par des organismes aérobies, ces genres ont été isolés et caractérisés. D'un grand nombre d'expériences pratiquées au moyen de prélèvements très divers, l'auteur a seulement pu isoler une bactérie pour une vingtaine d'espèces cryptogamiques.

En ce qui concerne les champignons susceptibles de produire des mycoses végétales, nous renvoyons encore à la bibliographie de R. Sartory. « La dégradation cryptogamique de la cellulose dans la nature est un phénomène d'un ordre encore beaucoup plus vaste que la dégradation bactérienne. Jusqu'à présent on a toujours admis que cette destruction due aux champignons se passait exclusivement en aérobiose, dès le début de notre étude nous avons aussitôt pensé qu'il était nécessaire d'examiner l'action des organismes à la fois dans des conditions aérobies et anaérobies. La nécessité de ces recherches nous a semblé inévitable vu les conditions dans lesquelles se déroulent le processus digestif et assimilateur de la cellulose dans le tube digestif des larves et des insectes xylophages. » Par les travaux de cet auteur, le champ de l'étude de l'action des champignons sur la cellulose a été encore agrandi.

Que les champignons aient la capacité de digérer la cellulose, c'est une idée que l'on n'oserait plus contester de nos jours; le fait est admis depuis longtemps car, dès le début de l'étude des cryptogames, on a constaté qu'une catégorie de ces êtres est capable de s'introduire à l'intérieur des cellules végétales. Ils sont donc contraints de traverser les membranes, qui pour la plus grande partie, sont composées de cellulose. Cette propriété revient aussi bien à certains champignons saprophytes qu'à des champignons parasites. Nous trouvons des recherches précoces sur l'action lytique des champignons vis-à-vis de la cellulose dans les travaux de De Bary.

Cet auteur travailla au moyen de *péziza sclerotiorum* Libert et indiqua que cette espèce sécréta un poison qui a la propriété de tuer le protoplasme et de dissoudre les lames mitoyennes des membranes cellulaires et plus ou moins les

membranes cellulosiques elles-mêmes ; plus tard Behrens (30) en étudiant les parasites de la pourriture des poires et des pommes, effectua des recherches sur l'action destructrice de différents champignons sur la cellulose ; ces parasites sont *botrytis vulgaris*, *penicillium luteum*, *penicillium glaucum*, *mucor stolonifer* et *oidium fructigenum*.

L'auteur constate que seul *botrytis vulgaris* attaque la cellulose ; un chapitre très important traitant de l'action dissolvante des champignons sur la cellulose a été ébauché par Appel (31) et ensuite étudié en détail par le même auteur et ses élèves ; en ce qui concerne les fusariums parasites des plantes, Schikorra (32) rechercha le pouvoir dissolvant du *fusarium vasinfectum var.* Pisi. Dans ses cultures, il trouve après 10 ans une poussée très luxuriante sur milieu cellulosé et, après 50 jours, le papier filtre employé était complètement transformé en une masse pâteuse. Afin de rechercher si le champignon produit une enzyme, l'auteur a trituré le mycélium adhérant au papier filtre avec du sable fin, puis il a lavé le mélange sur un filtre au moyen d'eau distillée ; dans ce filtrat il put mettre en évidence une enzyme attaquant la cellule vivante en la plaçant au contact de Symphoricarpus racemosus et d'Allium cepa. Il donne comme quantité de cellulose disparue au cours de sept semaines : 48,25 %, mais le dosage a été effectué par simple séparation mécanique. Vers la même époque Schellenberg (33) effectua des recherches sur l'action de quelques champignons sur les polysaccharides ; il trouva des champignons qui attaquent et décomposent facilement l'hémicellulose et ne put jamais mettre en évidence par sa méthode une décomposition de la cellulose proprement dite. Dans sa technique, cet auteur employa des coupes microscopiques de plantes supérieures qu'il ensemençait au moyen de champignons en les maintenant dans la chambre humide microscopique, ces constatations se limitaient alors uniquement à l'observation au microscope. Les travaux sur les Fusariums ont été ensuite poursuivis par Schaffnit (34) sur *Fusarium nivale;* ses conclusions expriment que le *Fusarium nivale* attaque dans les membranes végétales les éléments cellulosiques et non les matières pectiques. Pendant la guerre, ces études continuèrent et Heller F. (35) examina le pouvoir cellulolytique de différentes espèces cryptoga-

miques, en employant des méthodes rigoureuses. Cet auteur expérimenta le Fusarium lolii, Fusarium métachroum, Fusarium theobramae, Fusarium coeruleum, Fusarium subulatum, Fusarium discolor, Fusarium Martii, Fusarium Wilkommii, Fusarium orthoceras, Fusarium falcatum, Fusarium gibbosum, Rhizoctonia solani, Verticillium lateritium, Trichothecium roseum, Mucor stolonifer, Mucor mucedo et Pénicillium glaucum. De ces recherches il ressort que tous les Fusariums expérimentés sauf le Fusarium subulatum, ainsi que le Rhizoctonia et le Trichothecium possèdent un pouvoir cellulolytique très prononcé.

Une attaque faible est réalisée par Fusarium subulatum, Penicillium glaucum; les Mucors mucedo et stolonifer sont restés sans action sur la cellulose. Tous ces organismes ont été sans aucun pouvoir sur l'hémicellulose. Quant au Fusarium lolii et au Fusarium nivale, Heller a démontré qu'ils sécrètent à part une cellulase, aussi une pectinase.

En dehors de ces études spécialisées sur les Fusariums, nous trouvons des recherches traitant de l'action lytique vis-à-vis de la cellulose par d'autres espèces dans les travaux de Van Iterson qui, par sa technique devenue classique depuis, démontra que trente-cinq moisissures détruisaient la cellulose. Il étudia quinze champignons inférieurs en détail, dont nous indiquerons ici les noms : Trichocladium asperum Harz, Mycogene puccinoïdes Sac., Stemphylium macrosporoideum Sac., Chaetomella horrida Ooud., Botrysis vulgaris Fr., Epicoccum purpurascens Ehrenb., Chaeto kunzeanum Zopf, Stachybotrys alternans Oud., Cladosporium herbarum Link., Pyrenochaeta humicola Oud., Pyronema confluens Müll., Sordaria humicola Oud., Sporotrichum bombycinum Rabh., Sporotrichum roseolum Oud. et Beijer., Sporotrichum griseolum Oud. Van Iterson a pu isoler une enzyme, la cellulase et suivant l'action de celle-ci, il classe les champignons isolés par lui en trois groupes : champignons destructeurs de la cellulose en quantité forte, moyenne et faible; Haumann (36) indique comme cellulophage, les champignons suivants : Penicillium glaucum, Mucor Mucedo, Cladosporium herbarum, Sclerotinia Libertiana, Botrytis cineraera et Aspergillus niger; ces résultats semblent contradictoires avec ceux de Behrens pour Penicillium glaucum et ceux de

Van Iterson pour Mucor mucedo. Fröhlich (37), en examinant des champignons très répandus sur les plantes mortes, trouve que Alternaria tenuis Nees, Macrosporium commune Rbh. et Hormodendron cladosporoïdes Sac. sont capables de couvrir leurs besoins hydrocarbonés uniquement au moyen de cellulose. Carbone et Marincola Cattanéo (38) examinent sept différents représentants d'Eumycètes isolés de la terre, ces champignons dissolvent très vite les matières pectiques, quelques-uns aussi la cellulose.

Les auteurs ne trouvent pas de produits intermédiaires de cette dégradation.

Une classe de champignons qui, de même, semble jouer un rôle très important dans la destruction cellulosique, est celle des Actinomycètes; dans cette voie, des travaux ont été poursuivis par Fousek (39), il examine Streptothrix chromogena et Streptothrix alba : ces champignons sont des agents destructeurs très actifs de la cellulose et ils occasionnent toujours la formation de pigments au cours de leur attaque. La plupart des organismes isolés dans les travaux remarquables de Mütterlein semblent appartenir à ce groupe; les conclusions de l'auteur sont les suivantes : à l'encontre de l'opinion généralement admise que ce sont les bactéries anaérobies qui viennent en question dans la disparition de la cellulose dans la nature, ses recherches prouvent que dans ce processus l'action prépondérante revient à des organismes aérobies et parmi eux surtout aux champignons et aux Actinomycètes.

Il nous reste à mentionner les recherches importantes et de longue haleine sur l'assimilation de la cellulose dans le tube digestif des animaux domestiques tels que mouton, bœuf, cheval et porc, exécutées par Ellenberger (40) et ses élèves Scheunert (41) et Hopfe (42).

Dans ces travaux, les auteurs ont décelé une quantité de bactéries cellulophages, mais à côté de ces bactéries, Ellenberger a trouvé constamment chez tous les animaux domestiques une moisissure appartenant à la famille des Périsporiacées et au genre Aspergillus, ce champignon a été cultivé en toute pureté; il présentait une grande affinité pour la cellulose; des cultures ont été pratiquées en aérobie et en anaérobie; les auteurs ont examiné l'activité cellulolytique de

leur organisme et ils trouvent qu'au bout de 15 jours 8,75 % de cellulose mise à sa disposition ont disparu; au bout de 50 jours ce chiffre monte à 52,56 % et peut même atteindre 60 %. Ils ont isolé une cellulase et ont pu mettre en évidence que la décomposition de la cellulose par ce champignon suit des voies toutes différentes de la fermentation cellulosique produite par les bactéries. Ils ont pu observer que cette fermentation bactérienne gazeuse est arrêtée ou très ralentie par la présence de leur Aspergillus en symbiose.

Nous n'avons pas l'ambition de vouloir, dans ce chapitre, relater toutes les expériences faites sur la question, mais nous croyons par le nombre et la valeur des travaux cités, que nous avons le droit de conclure que la dégradation cryptogamique de la cellulose dans la nature occupe une place très importante». Ceci a été aussi prouvé tout dernièrement par WAKSMAN (43) et son école dans leurs travaux sur la cellulose comme source d'humus dans le sol.

L'auteur a entrepris d'étudier la question au moyen d'expériences dans lesquelles il ajoutait, à de la terre ou à du sable, de la cellulose sous forme de papier moulu, en même temps qu'une dose convenable d'azote ammoniacal et de sels nutritifs. On ensemençait avec des cultures pures de différents organismes : champignons, actinomycètes, bactéries.

Au bout de deux mois à l'étuve, on dosait la cellulose non décomposée et l'azote ammoniacal restant. Le taux de la cellulose décomposée variait de 7 à 50 % chez les actinomycètes et bactéries, en s'élevant jusqu'à plus de 90 % chez les champignons, notamment chez *Aspergillus fumigatus* et *Trichoderma koninckii*.

Quels que soient les processus chimiques qui conduisent à ce résultat, dit l'auteur, production d'acides organiques ou d'alcool, comme chez certaines bactéries, ou combustion complète, comme chez les champignons, un fait est à retenir : la production de plasma microbien, aux dépens de la cellulose. Sa quantité pourrait être déterminée dans ce cas en se basant sur le rapport qui existe entre l'azote consommé et le carbone assimilé et qui est environ 1 : 9 chez les champignons, 1 : 6 chez les bactéries. En dosant l'acide carbonique mis en liberté pendant l'expérience d'un côté, le reste de la cellulose et de l'azote offerts d'un autre, il est possible

d'établir le bilan du carbone, et il apparaît qu'une partie notable du carbone de la cellulose passe à l'état de protoplasma microbien.

Dans une expérience de longue haleine, de la cellulose a été incorporée à 500 gr. de sable (additionné d'azote et ensemencé par une suspension de terreau). En renouvelant la matière au fur et à mesure de sa destruction, l'auteur a constaté au bout d'un an une disparition de 227 gr. Le papier avait disparu transformé en une masse brune. La quantité de substances organiques formée dans ces conditions atteignit 46 gr., soit environ 20 % de la cellulose disparue. Jusqu'à 41 % de cette substance était soluble dans la soude à 4 %; l'acide chlorhydrique y précipitait 1 gr. 46 d'« acide humique » qui contenait près de 4 % d'azote.

Le dosage de la lignine dans les pots montra en même temps qu'ils contenaient une quantité notable de cette substance, que l'auteur attribue aux mycéliums des champignons. Rechargée de nouveau dans des pots et soumise aux mêmes conditions et analysée après un nouveau séjour de 4 mois à l'étuve, cette substance, résultante de la synthèse microbienne, a donné à l'analyse les mêmes fractions de la substance organique du sol, quoique dans des proportions différentes.

Sée (44), en expérimentant au moyen de différents papiers, a pu isoler une trentaine d'espèces de champignons, qui constituent d'après lui une florule particulière à ce milieu très spécial qui est le papier. Nous ne croyons pas que ces champignons possèdent un pouvoir cellulolytique prononcé, mais l'auteur arrive comme Drechsler à la conclusion que ces microorganismes occasionnent des dépréciations notables aux différentes sortes de papier.

Afin d'enrayer les dommages et les destructions que ces organismes occasionnent dans l'industrie du papier et principalement dans les livres, différentes méthodes et expériences ont été employées et mises en œuvre. C'est ainsi que Sée indique dans son travail fort intéressant, quatre différents procédés :

1° des procédés mécaniques,
2° des procédés chimiques,
3° des procédés physiques,

4° des procédés biologiques pour protéger les papiers contre l'invasion et la destruction.

Mais cet auteur arrive aux conclusions suivantes : « Aucun traitement n'a donc donné les résultats espérés. »

L'auteur cite tout d'abord une quantité de précautions qu'on devrait prendre pour la fabrication du papier :

1° en ce qui concerne le choix et la préparation des matériaux primitifs ;

2° en ce qui concerne la préparation des pâtes et l'encollage.

Ces précautions ne suffisent cependant pas pour garantir la bonne conservation des papiers. Pour cette raison Sée a fait des études personnelles pour établir le moyen propre à empêcher la moisissure du papier terminé. A cet effet, il emploie des solutions aqueuses de fluorure de sodium, de formol, de sublimé et oxycyanure de mercure. Il arrive à la conclusion suivante :

L'immersion des papiers dans une solution antiseptique toutefois, rationnelle au point de vue théorique, ne semble cependant point applicable à la pratique. Elle rend, en effet, les papiers rugueux et, prolongée un certain nombre d'heures, elle en provoque des altérations assez profondes.

Enfin, si l'on en croit le dire des techniciens, le résultat ne serait que passager, car l'antiseptique s'éliminerait progressivement du papier.

Finalement Sée expérimente encore la stérilisation au moyen de vaporisation à l'aldehyde formique, qu'il retient comme présentant de nombreux avantages, sans toutefois lui donner satisfaction complète.

Dans le même ordre d'idées Louis Matruchot et Pierre Sée (45) ont essayé l'action toxique de la chloropicrine ou trichlornitrométhane C (NO^2) Cl^3 sur des moisissures diverses. Les germes à étudier étaient placés dans une enceinte close, dont l'air était saturé de vapeurs toxiques : l'appareil consistait en un disque percé de trous, portant à son centre une petite coupelle remplie de chloropicrine en excès, et surmontée d'une cloche de verre; dans chacun des trous était introduit un tube de culture débouché. Après des temps variables de contact, la vitalité des cultures était contrôlée par repiquage.

Les auteurs concluent que la chloropicrine permet d'obtenir la désinfection certaine d'une enceinte, quant aux moisissures que celle-ci peut renfermer. Il suffira de faire agir la vapeur toxique à saturation pendant huit heures, ou à des doses beaucoup moindres pendant quelques jours.

Cependant on rencontre des difficultés pour l'application de ce procédé dans la grande industrie. C'est pour cette raison que nous revenons sur les recherches qui ont été effectuées en même temps que les nôtres par WIDDER et dont nous énumérons les méthodes et les conclusions de ce travail.

1° Les méthodes de GUEGUEN (1) et de BECHHOLD-EHRLICH (2) permettent de contrôler l'action de substances antiseptiques sur les organismes cryptogamiques. Les résultats obtenus au moyen de ces deux techniques sont comparables et prouvent que celles-ci se complètent réciproquement.

2° La méthode de BECHHOLD-EHRLICH prouve qu'il est impossible d'obtenir une destruction des champignons au moyen d'un sel antiseptique employé à une concentration ne dépassant pas 4 %.

3° La méthode de GUEGUEN permet de sélectionner un certain nombre d'antiseptiques de haute valeur microbicide parmi un grand nombre d'autres produits sans aucune action anticryptogamique.

a) Les silicofluorures, les dérivés de l'oxyquinoléine, les dérivés phénoliques et benzéniques connus sous le nom de xylénols, les dérivés de l'hydrocupréine (Vuzine) constituent des antiseptiques très recommandables contre les champignons.

---

1) Les méthodes de Bechhold-Ehrlich (17) et de Gueguen (3) : La méthode de Bechhold-Ehrlich est employée pour mesurer la dose destructrice d'un antiseptique vis à vis d'un microorganisme, c.-à-d. la quantité d'antiseptique minima nécessaire pour tuer dans un temps donné

2) La méthode de Gueguen est destinée à fixer la dose infertilisante d'un antiseptique vis-à-vis d'un microorganisme, c.-à-d. qu'elle a pour objet la détermination de la concentration en antiseptique (incorporé dans un milieu nutritif), nécessaire pour en empêcher la croissance.

4° Ces derniers produits toxiques employés dans des solutions où ils entrent accouplés par deux ou par trois, déterminent une inhibition de la croissance de nos organismes cryptogamiques même employés à des doses relativement minimes. Ils ne détruisent cependant pas ces êtres lorsqu'ils sont utilisés dans les mêmes conditions ou à des concentrations plus fortes dépassant globalement 2 %.

5° La valeur des différents antiseptiques à action destructrice forte peut être numériquement exprimée de la façon suivante :

Vuzine	1/3
Silicofluorure	1/15
Métaxylénol	1/15
Sunoxol	1/17
Quinosol	1/20

La valeur toxique s'exprime par le rapport de l'action infertilisante à l'action destructrice.

6° Un effet destructeur sur les champignons peut être réalisé par l'accouplement d'un ou de plusieurs de ces produits à une solution de sublimé. La concentration nécessaire en sublimé diminue par rapport au nombre des autres antiseptiques incorporés dans la solution toxique. Finalement, nous donnons le mélange d'antiseptique trouvé dans ce travail qui garantit un maximum de la destruction et l'inhibition de la vitalité des organismes cryptogamiques. Sa composition est la suivante :

Sublimé	0,02 %
Vuzine	0,02 %
Silicofluorure	0,05 %
Sunoxol	0,05 %

DEUXIÈME PARTIE

TRAVAUX PERSONNELS

CHAPITRE PREMIER

Méthodes employées pour isoler les champignons « charticoles » et leur étude botanique

Les organismes cellulophages employés au cours de notre travail ont été isolés par nous directement de différents papiers avec et sans encollage, qui ont été mis à notre dispotion par deux usines de papier des Vosges.

Ces papiers étaient plus ou moins altérés par l'attaque des parasites cryptogamiques. Les uns présentaient des taches pigmentées de différentes façons soit en gris, soit en vert, soit en brun ou en noir. La dimension de ces taches était variable mesurant de 1 à 5 ou 6 mm. Le centre de ces colonies est généralement punctiforme plus ou moins foncé. Puis on distingue une zone périphérique circulaire plus claire constituée par le défibrement du papier dans lequel les pigments et les sécrétions diastasiques ont plus ou moins diffusé. Le centre de la colonie par contre est formé par les éléments parasitaires eux-mêmes. Ces taches peuvent être visibles seulement unilatéralement, mais le plus souvent elles sont perceptibles des deux côtés du papier.

Des autres échantillons de papier ne présentaient macroscopiquement et sans l'emploi d'un réactif aucun signe d'altération. Si on étalait des colorants ou de l'encre sur la surface de ces feuilles, on constatait à certains endroits la déterioration de la surface de l'encollage et ces papiers présentaient à

ces endroits les propriétés d'un papier buvard. Les mêmes échantillons mouillés simplement au moyen de l'eau et contrôlés par transparence en les tenant contre la lumière du jour, montraient des endroits plus ou moins arrondis dont l'épaisseur semblait amincie et transparente.

Au moyen de ces deux sortes de papier, nous avons effectué nos recherches pour isoler les organismes cellulophages. A cet effet, nous avons employé deux sortes de récipients pour pratiquer nos cultures. Des tubes de Roux étranglés à la partie inférieure, dits «à pomme de terre» ont été utilisés pour créer simplement une atmosphère humide à l'intérieur du tube sans mouiller directement le papier. Le liquide aqueux nutritif était une solution à 0,5 gr. de sulfate de magnésie et de chlorure de sodium pour 1 litre d'eau; cette solution était placée dans la profondeur du tube et les bandes de papier découpées aussi aseptiquement que possible, étaient enroulées en forme de cylindre et disposées dans les tubes au-dessus de l'étranglement.

Pour la deuxième méthode nous avons utilisé des boîtes de Borrel rondes; au fond de celles-ci nous avons placé une mince couche de sable purifié et la solution nutritive. Au-dessus nous avons encore introduit notre cylindre de papier en expérience. Ce dispositif permet donc l'examen d'une surface assez large et le milieu nutritif était absorbé très lentement par la terre cuite et imbibé ainsi seulement progressivement et au fur et à mesure les papiers en expérience. Notons encore que le milieu aqueux était remplacé tous les 3 ou 4 jours avec toutes les précautions d'une asepsie rigoureuse. Le milieu nutritif pour l'isolement des parasites au moyen des cultures dans les boîtes de Borrel a la composition suivante :

Sulfate d'ammoniaque	2 gr.
Phosphate monopotassique	1 gr.
Sulfate de magnésie	1 gr.
Chlorure de sodium.....	2 gr.
Eau distillée	1000 cc.

Au moyen de ces deux méthodes, il nous a été donné d'isoler les champignons cellulophages que nous décrivons par la suite, et d'éviter dans la plupart des cas l'envahisse-

ment des échantillons de papier par les espèces vulgaires (Penicillium glaucum, Aspergillées banales, Mucorinées, etc.). Si ces germes infectent malgré toutes les précautions les cultures, ce sont probablement des saprophytes qui existent déjà sur la surface du papier antérieurement à l'expérience et le développement des ces organismes se fait alors d'une façon très précoce, au bout des premières 24 ou 48 heures avec production d'un gazon mycélien très abondant. Dans ces cas, nous avons toujours abandonné les cultures sans tenir compte de l'expérience.

Les champignons parasites des papiers que nous avons isolés et dont nous allons prouver dans notre travail les propriétés cellulophages prononcées sont les suivantes :

Cladosporium herbarum variété cellulosae; Pers.
Fusarium cœruleum var. cellulosae; (Lib.) Sacc.
Aspergillus fumigatus ver. cellulosae; Hopf.
Monilia Cellulosophaga n. sp.
Actinomycès cellulosae; Krainsky.

Nous donnons ci-joint en résumé les caracteres morphologiques et biologiques de ces champignons.

Cladosporium herbarum cellulosae.

En partant d'échantillons de papier présentant des taches brunes ou noirâtres, il nous a été donné au moyen de nos deux techniques précédemment décrites d'isoler une espece présentant tous les caracteres morphologiques du genre Cladosporium Pers.

Caractères morphologiques : Le mycélium filamenteux de jeune culture sur milieu de Sabouraud maltosé à pH = 5,1 est constitué par des hyphes hyalins dressés de 5 à 10 μ de large sur 300 à 400 μ de long. Ces éléments donnent naissance à des conidies verdâtres devenant plus tard d'un brun fuligineux. A la maturité ces spores sont ovalaires ayant une longueur de 2 à 3 μ et un diamètre de 1 à 2 μ. Les conidies sont d'origine acrogène, mais plus tard les hyphes fructifères continuent leur croissance tout en donnant naissance a des nouvelles conidies de sorte que nous trouvons alors des amas

de conidies insérées ou accolées latéralement sur les filaments. Ces amas sont formés par des conidies rectangulaires et incolores à l'extérieur, tandis que l'intérieur de ces chapelets est formé par des éléments arrondis, fortement pigmentés. Ces spores constituent des conidies âgées. D'autre part, on trouve des appareils sporifères jeunes situés aux extrémités des filaments formant des petits chapelets centripètes irréguliers et d'une coloration grisâtre. Les conidies naissent sur un petit bourrelet qui semble avoir une fonction sporogène spécifique. Le conidies âgées deviennent libres, elles s'allongent et se cloisonnent ordinairement. C'est ainsi qu'on trouve dans les vieilles cultures des spores uni-, bi- ou tricellulaires de couleur gris-bleuâtre devenant ensuite fumée, ce qui donnera à la culture un aspect bleu-noirâtre. On assiste donc à une modification successive de la pigmentation des cultures qui deviennent d'un ton blanchâtre, bleu-noirâtre en passant d'abord vers le vert olive.

Nous n'avons pas pu observer d'autres formes de reproduction au cours de nos recherches, sauf la production de sclérotes sur les milieux cellulosés que nous décrivons plus loin.

Propriétés biologiques : L'optimum cultural est situé pour ce champignon entre + 18 et + 27°. La meilleure récolte s'obtient au pH 5 à 5,4. Le milieux de choix pour cet organisme nous a semblé être celui de Sabouraud maltosé. Ici le développement devient manifeste dès les premières 12 heures de culture et après 48 heures on obtient déjà un gazon filamenteux très luxuriant.

Caractères culturaux : Le milieu de *Sabouraud glucosé* nous a donné des cultures de Cladosporium à propriétés morphologiques tout à fait semblables à celles que nous avons décrites pour le milieu de Sabouraud maltosé. Le développement est cependant moins luxuriant.

L'ensemencement sur *milieu de Raulin* acide ou neutre fournit un mycélium très riche gardant très longtemps son aspect blanchâtre. Ceci prouve déjà que la sporulation est retardée dans ces milieux. Nous avons contrôlé ce fait microscopiquement et nous avons ainsi pu constater que les hyphes prenaient en général une épaisseur plus marquée,

mais les chapelets de spores étaient pour ainsi dire supprimés et chaque bourrelet sporogène donnait naissance seulement à de très petites chaînettes de conidies blanchâtres.

Sur *milieu de pomme de terre*, il se forme une culture luxuriante très homogène, mais à l'examen microscopique, nous avons pu constater des formes mycéliennes désarticulées à la suite d'une ramification très intense donnant des articles d'abord grands et anguleux. Dans les cultures plus âgées, ces éléments cloisonnés diminuent progressivement de taille pour devenir elliptiques ou ovalaires et pour constituer des amas de pseudospores verdâtres à aspect assez variable. Ces fausses conidies peuvent germer pour donner un seul filament généralement, et leurs tailles instables ne nous permettent pas de fixer ici des dimensions précises. La pomme de terre se colore au contact du champignon en brun-noirâtre.

Dans les *bouillons ordinaires* ou autres *milieux alcalins* ayant un pH de 7,2 à 7,8, l'évolution est moins favorable. Le même fait a été constaté pour le *bouillon de carottes* ou de *pommes de terre*. Ici l'organisme a une forte tendance à évoluer sous forme de conidies levures. Ces éléments, très cloisonnés, se libèrent par la rupture de tout le système et nagent alors dans le liquide en affectant des formes de *Dematium*. Réensemencées sur milieu de Sabouraud maltosé, ces formes levuriennes redonnent les fructifications caractéristiques de Cladosporium. Boas (46) a déjà mentionné ce fait qu'on peut expliquer par l'alcalinisation qu'occasionne le Cladosporium en produisant de l'ammoniaque qui se combine avec l'acide phosphorique et le magnésium introduit dans le milieu nutritif. Nous avons, en effet, pu constater une proportion très forte de cristaux de phosphate ammoniaco-magnésien dans ces différents milieux liquides. Le résultat de ce phénomène semble produire une auto-intoxication du champignon.

Propriétés biochimiques : Sur milieu de lait, le champignon évolue vite en produisant une pigmentation brunâtre du lait. Le Cladosporium secrète une peptase et une caséase. L'évolution est un peu moins bonne sur lait non écrémé que sur lait écrémé. Sur milieu de Raulin gélatiné le champignon pousse avec les mêmes propriétés morphologiques que sur le Sabouraud glucosé. La gélatine n'est pas liquéfiée.

Recherches sur l'assimilation des hydrates de carbone.

L'addition au liquide de Raulin neutre, dépourvu d'hydrates de carbone, de 3 % de monosaccharides tels que glucose, galactose, levulose, mannose, ou de 5 % de disaccharides, tels que saccharose, maltose, lactose, ont une influence défavorable sur le développement de notre champignon. A cet effet, nous avons introduit chaque sucre envisagé dans le milieu de Raulin neutre au moment de l'emploi avec toutes les précautions d'asepsie. Le liquide de Raulin, ainsi que la solution aqueuse d'hydrate de carbone ont été stérilisés préalablement afin d'éviter toute hydrolyse. Nous avons laissé évoluer les cultures pendant 18 jours pour filtrer ensuite le milieu. Le filtrat a été dosé au moyen de la méthode de Bertrand pour caractériser quantitativement le reste du sucre non utilisé, par comparaison avec un tube témoin ayant suivi toutes les opérations sans être ensemencé. A cet effet, l'hydrolyse préalable a été chaque fois effectuée par acidification au moyen de l'acide chlorhydrique dilué et chauffage au bain-marie. D'autre part, nous avons recueilli sur le filtre la culture mycélienne qui a été soigneusement lavée et séchée pour effectuer la mesure pondérale de la récolte du champignon. Dans le tableau qui suit, nous exprimons les résultats de cette expérience pour chaque sucre.

TABLEAU I

Sucres	Sucre disparu %	Récolte : mycélium sec en %	Formation de gaz
Glucose	38,82	69,40	néant
Lévulose	7,24	26,24	»
Galactose	40,36	58,82	»
Saccharose	42,67	72,27	»
Maltose	59,63	100,—	»
Lactose	18,36	33,70	»
Mannose	33,70	56,43	»

On voit donc que l'organisme se développe d'une façon assez satisfaisante sur tous les milieux sucrés, cependant l'hydrate de carbone le plus favorable est le maltose, vient ensuite le saccharose, le glucose et le galactose, tandis que les autres constituent des matières nutritives plutôt médiocres.

Recherches sur l'assimilation de l'azote.

Pour effectuer ces recherches nous avons employé un milieu minéral de base complètement dépourvu d'azote, sa composition était la suivante :

Chlorure de sodium	0,2 gr.
Sulfate de magnésie	0,3 gr.
Phosphate bipotassique	0,5 gr.
Eau	1000 cc.

Comme milieu de témoin nous avons employé ce milieu de base auquel nous avons incorporé 3 % de glucose et 1 % de péptone de Witte. Nous avons remplacé pour les expériences proprement dites ces deux substances organiques soit simultanément, soit seulement l'une d'elles par un des produits suivants, afin de pouvoir examiner si ces substances organiques pures pouvaient être utilisées par le champignon comme matière nutritive hydrocarbonée et azotée. Nous exprimons dans le tableau suivant les résultats de ces expériences en désignant par le nombre des signes + l'effet plus ou moins favorable.

TABLEAU II

Sucre	Peptone	Substances azotées sp.	Développement
Glucose	—	urée	++
—	peptone	urée	+
Glucose	—	guanidine	+++
—	peptone	guanidine	++
—	—	guanidine	+
Glucose	—	ac. urique	++++
—	peptone	ac. urique	+++
—	—	ac. urique	+
Glucose	—	guanine	+++
—	peptone	guanine	+++
—	—	guanine	+
Glucose	—	glycocolle	++++
—	peptone	glycocolle	+++
—	—	glycocolle	+
Glucose	—	créatine	++++
—	peptone	créatine	+++
—	—	créatine	+

De l'ensemble de ces recherches on voit donc que le Cladosporium en expérience peut utiliser le glycocolle et l'acide urique à la fois comme aliment hydrocarboné ou comme aliment azoté. D'autre part, le champignon peut utiliser, le cas échéant, et après adaptation, la guanine comme aliment ternaire, tandis que l'urée et la guanidine sont utilisées par le champignon en produisant de l'ammoniaque qui arrête très tôt le développement. D'un autre côté, le Cladosporium peut dégrader la molécule d'urée, ce qui ressort des expériences de l'urée et de la créatine; ici aussi on peut mettre en évidence des traces d'ammoniaque libre dans les milieux de culture.

Recherches sur l'assimilation de matières grasses.

En nous basant sur les travaux antérieurs de A. et R. Sartory et J. Meyer (46b) sur le Cladosporium Rietmanni, nous avons jugé utile à présent de rechercher aussi l'action de notre espèce sur les substances grasses. La méthode de ces auteurs que nous avons employée est la suivante : on découpe du foie frais de cheval pour obtenir une purée. On stérilise cette substance à 120° et on la dessèche dans le vide à +37°. On introduit ensuite une certaine quantité de cette substance exactement pesée dans un ballon Erlenmeyer stérilisé au préalable et renfermant en eau deux fois le volume du foie sec introduit. En employant d'un côté trois ballons ainsi préparés pour l'ensemencement de notre Cladosporium, et d'autre part, trois ballons identiques non ensemencés et servant de témoin, on place les six ballons à l'étuve à +27° pendant quatre semaines. Au bout de ce temps on a introduit dans chaque ballon 50 cc. de NaOH à 20 % et on chauffe au bain-marie pendant deux heures pour tuer d'un côté les champignons dans les ballons ensemencés et pour saponifier d'autre part les graisses. Nous avons alors effectué l'extraction de ces substances au moyen de la méthode de Kumagawa-Suto (47). Nous donnons dans le tableau suivant le résultat de ces expériences.

Substances grasses trouvées en employant 3 gr. de poudre de foie.

TABLEAU III

Essais N°	Extrait d'éther du Pétrole		Cholestérol et insaponifiable		Acides gras	
	grammes	%	grammes	%	grammes	%
Avant l'ensemencement :						
1	0,3178	10,59	0,0222	0,740	0,2958	9,86
2	0,3137	10,46	0,0239	0,796	0,2896	9,65
3	0,3194	10,65	0,0247	0,823	0,2946	9,82
moyenne	0,3169	10,56	0,0236	0,786	0,2900	9,78
Après l'ensemencement :						
4	0,2374	7,91	0,0156	0,522	0,2135	7,12
5	0,2457	8,19	0,0179	0,591	0,2047	6,82
6	0,2631	8,77	0,0164	0,580	0,2213	7,38
moyenne	0,2487	8,29	0,0166	0,564	0,2132	7,12

En comparant les moyennes obtenues dans les deux séries d'expériences on constate que notre organisme a assimilé une certaine proportion de substances grasses de foie de chevaux que nous exprimons numériquement ci-dessous :

	Avant l'ensemencement	Après l'ensemencement	Diminution
Extrait d'éther de pétrole % . . .	10,56	8,29	21,4 %
Cholestérol et insaponifiable % . .	0,786	0,564	28,2 %
Acides gras %	9,78	7,12	27,2 %

Les résultats de ces expériences ainsi exprimés en % montrent donc que notre champignon utilise en moyenne entre 20 et 25 % de substances grasses mises à sa disposition sous forme de graisse hépatique.

En résumant nos recherches, nous avons pu constater que l'espèce isolée par nous se caractérise par les propriétés morphologiques et biologiques suivantes :

Mycélium filamenteux formant des hyphes cloisonnés, se reproduisant par des conidies naissant sur un bourrelet sporogène, par des éléments bourgeonnants en forme de

levure ou de dématium. Conidies uni-cellulaires ou bi- ou tri-cellulaires, ovalaires ou elliptiques, fortement pigmentées, insérées suivant le mode acrogène ou formant des chaînettes ou des chapelets d'origine pleurogène. Assimilation des sucres sans formation de gaz avec prédilection pour le maltose, le lévulose constituant un aliment ternaire très médiocre.

Assimilation des matières quaternaires, dont les péptones, le glycocolle et l'acide urique constituent des aliments très favorables, mais l'urée, la guanidine, la guanine, la créatine peuvent aussi être assimilées avec production d'ammoniaque dans les milieux de culture.

Assimilation des substances grasses peu prononcée.

Développement luxuriant sur milieu de lait avec production de peptase et de caséase, aucune liquéfaction de la gélatine, ni du sérum de cheval coagulé.

Etant donné ces constatations, nous nous croyons en droit de classer ce champignon suivant RABENHORST (48) dans l'ordre des phaeodidymées, dans le sous-ordre des cladosporées dans le genre cladosporium Link. Nous rapprochons, en égard aux caractères que nous avons pu établir l'espèce à *Cladosporium herbarum var. cellulosae Pers.*

Fusarium coeruleum var. cellulosae.

En appliquant les techniques ci-dessus décrites au papier présentant des taches violet-noirâtre, nous avons pu isoler dans les tubes de Borrel contenant le milieu nutritif indiqué antérieurement, un champignon que nous avons pu déterminer comme faisant partie du genre Fusarium. Afin d'obtenir des cultures à propriétés définitivement fixées, nous avons employé les méthodes indiquées par APPEL et WOLLENWEBER (49) en cultivant l'organisme pendant plusieurs mois sur divers milieux végétaux et en réensemençant les cultures tous les 15 jours sur milieu neuf. Nous avons employé à cet effet des milieux de pommes de terre, de carottes, de bananes et d'autres substrats végétaux.

Sur ces milieux végétaux, nous avons constaté que le champignon forme des verticilles à trois branches. Ces éléments se transforment en une sorte de phialides donnant naissance aux spores. Celles-ci ont un aspect fusiforme le

plus souvent unicellulaire, rarement bicellulaire. Les conidies sont incolores hyalines, munies d'un côté d'un pédicule arqué rappelant, comme WOLLENWEBER s'exprime, l'aspect d'un pied d'enfant. Ces formations constituent le point d'insertion de la conidie sur la phialide.

Le milieu de choix d'après nos constatations pour cet organisme, est le milieu Sabouraud maltosé. Sur ce substrat, le champignon forme un mycélium cloisonné et ramifié. Cette ramification est le plus souvent alternativement bilatérale, à l'exception des branches terminales qui constituent toujours des verticilles à trois branches. Le cytoplasme est hyalin avec une granulation fine et peu prononcée. La membrane est lisse et peu développée.

Les conidies naissent par formation d'un petit renflement terminal à l'extrémité des rameaux secondaires le plus souvent, le long des filaments à insertion latérale plus rarement. Ces renflements constituent ensuite un bourrelet de 3 à 7 μ, se séparant du filament par une cloison transversale. A ce moment il apparaît à la partie terminale du bourrelet une condensation protoplasmique avec un nouveau cloisonnement qui forme l'ébauche de la conidie. Celle-ci s'allonge rapidement et donne finalement la spore fusiforme incurvée, incolore et le plus souvent unicellulaire. Ces conidies se détachent à maturité et il se forme au niveau du bourrelet, successivement de nouvelles spores semblables à la première. Les conidies mûres s'allongent tout d'abord, puis il se forme dans leur partie centrale deux bourrelets cellulosiques qui s'agrandissent et se réunissent pour former une nouvelle cloison, transformant la conidie en une spore bi-cellulaire. L'espèce étudiée ne nous a pas permis d'observer des spores tri- ou multi-cellulaires. Dans les milieux secs, les spores ne se libèrent pas aussi facilement du filament mère et elles s'agglutinent à l'extrémité des rameaux en formant des glomérules sphériques réunis entre eux. Ces boules se dissocient immédiatement au contact de la moindre trace d'eau pour libérer les jeunes conidies qui sont capables de germer immédiatement. En vieillissant, les filaments mycéliens et les hyphes prennent une teinte très caractéristique d'un beau violet, les appareils conidiens restent par contre toujours incolores.

Les différents éléments ont des dimensions suivantes :

Filaments mycéliens : largeur 2 à 4 μ
longueur jusqu'à 0,8 mm
Conidies uni-cellulaires : 1 à 2 μ × 4 à 10 μ
Conidies bi-cellulaires : 3 à 5 μ × 10 à 28 μ

Sur les milieux moins favorables on assiste à un cloisonnement mycélien plus intense. Il se forme ainsi des cellules plus courtes à membranes plus épaissies plus ou moins polymorphes ou simplement rectangulaires. Ces formes mycéliennes de souffrance se dissocient très facilement et sont capables sur nouveau milieu de germer pour constituer un nouveau thalle.

Nous avons pu fixer les *propriétés biologiques* suivantes : sur milieu de choix, le champignon pousse entre +4° à + 38° et optimum cultural est compris entre + 18 et + 22°, mais la poussée est encore très satisfaisante à + 12° d'un côté et à + 27° de l'autre.

La concentration optima en ions H du milieu se trouve au pH=5,5.

Recherches sur l'assimilation des hydrates de carbone.

Nous avons appliqué pour l'étude de l'assimilation hydrocarbonée les mêmes principes et techniques que ceux indiqués lors de l'étude du *Cladosporium herbarum*. Nous exprimons dans le tableau suivant les résultats de ces recherches :

TABLEAU IV

Sucres	Sucres disparus %	Récolte : mycélium sec %	Formation de gaz
Glucose	32,17	84,20	+
Lévulose	5,33	13,55	néant
Galactose	19,83	49,17	±
Saccharose	46,80	100,—	+
Maltose	36,99	79,20	+
Lactose	17,43	24,74	±
Mannose	27,18	33,61	±

On voit d'après ces résultats que le sucre de choix pour notre organisme est le saccharose, viennent ensuite le maltose

et le glucose. Le champignon assimile ses matières ternaires en les dégradant jusqu'au stade d'anhydride carbonique que nous avons pu déceler au moyen de culture dans les tubes Besson munis d'un petit tube à hémolyse servant d'éprouvettes à gaz.

Recherches sur les propriétés protéolytiques.

Action sur le sérum coagulé.

Le Fusarium ensemencé sur sérum coagulé pousse très vite. La culture prend un aspect violacé poudreux. L'examen microscopique des prélèvements effectués sur ce milieu nous montre la forme filamenteuse fortement cloisonnée avec les appareils sporifères en nombre réduit. Les conidies restent agglomérées en boules gélifées. Le sérum n'est pas liquéfié malgré la diffusion du pigment à l'intérieur du substrat coagulé.

Action sur le blanc d'œuf.

Nous avons introduit de petits cubes de blancs d'œuf coagulé par la chaleur dans des tubes renfermant le liquide de Raulin sans péptone. Le tout a été stérilisé à l'autoclave à + 105°; ce milieu a été ensemencé et placé à des températures culturales de +22° et +27°. L'organisme se développe normalement en formant un voile violacé à la surface du milieu avec un dépôt crémeux dans le fond du tube. Après un séjour de 3 à 4 semaines à l'étuve, nous n'avons jamais pu constater une attaque ou une dissolution du blanc d'œuf par le champignon.

Action sur la gélatine.

Nous avons ensemencé notre organisme sur un milieu gélatine-péptone en piqûre et en surface sur le même milieu incliné.

A l'aide de la première méthode, nous avons obtenu une culture plus caractéristique formant vers le deuxième jour une petite ampoule au tiers supérieur de la strie d'ensemencement. Ensuite il se produit à la surface du milieu un tapis bleu-violacé très luxuriant. Le pigment diffuse dans la suite très rapidement à travers tout le milieu et cette diffusion est également intense dans le fond du sillon de la piqûre.

Mais dès le troisième jour il se forme un entonnoir de liquéfaction assez prononcé et le cinquième jour tout le milieu commence à se liquéfier.

Au moyen de la deuxième méthode, nous avons obtenu d'abord la formation d'un tapis violacé et dense. Les phénomènes de pigmentation, de diffusion et de liquéfaction sont analogues, sinon encore plus accentués que par la méthode précédente.

Nous concluons donc que notre Fusarium produit une gélatinase très active.

Action sur le lait.

Afin de contrôler l'action de notre organisme sur le lait, nous avons eu recours au milieu de lait tournesolé, ensemencé et placé à +22 et +27°.

Le deuxième jour déjà la teinte violette vire franchement au rouge, il y a donc fermentation du lactose et production abondante d'acide. La caséine du lait est précipitée par la production d'acide lactique et nous concluons à la sécrétion d'une présure par notre Fusarium. Vers le sixième jour, le coagulum formé commence à disparaître et le lait devient limpide prenant une coloration violette sale. Il y a donc peptonisation de la caséine par production d'une caséase de notre organisme avec alcalinisation du milieu.

Sur le milieu de lait pur écrémé, nous avons observé la précipitation de la caséine d'une façon semblable avec formation d'un pigment bleu-violet très diffusible, qui par la suite de la redissolution de la caséine, donne au milieu un aspect bleu sale. Ce qui confirme l'alcalinisation du milieu constaté dans l'expérience précédente.

Le Fusarium produit donc un ferment lab, il attaque comme nous l'avons déjà constaté le lactose et secrète une caséase.

Culture en anaérobiose.

Les cultures effectuées avec des dispositifs pour l'anaérobiose en employant l'étuve à vide d'Adnet et les tubes de Roux, nous ont montré que notre organisme n'évolue pas sans la présence d'oxygène.

D'après les caractères morphologiques et biologiques ainsi constatés, nous pouvons résumer nos conclusions de la manière suivante :

A. 1° L'organisme est caractérisé morphologiquement par un appareil végétatif formé de filaments mycéliens cloisonnés ramifiés par insertion unilatérale alternative des branches secondaires et l'existence de verticilles à trois branches terminales.

2° La présence de conidies à formation acrogène ou pleurogène en forme de navette ou de lentilles biconvexes ou en forme de faucille. Ces spores sont le plus souvent unicellulaires, devenant, en vieillissant, bi-cellulaires, munies d'un pédicule d'insertion en forme de pied d'enfant.

3° Production sur milieu pauvre d'éléments à contours irréguliers ou rectangulaires à membranes épaissies résultant d'une désarticulation des filaments mycéliens par cloisonnement exagéré.

4° Absence d'appareils reproducteurs sexués.

B. 1° Le Fusarium se différencie par les propriétés biologiques suivantes :

2° Assimilation des hydrates de carbone examinés, dans l'ordre décroissant suivant : Saccharose, Maltose, Glucose, Mannose, Galactose, Lactose, Lévulose. La dégradation de ces sucres aboutit au stade anhydride carbonique.

3° L'organisme est sans action sur le sérum coagulé et le blanc d'œuf, il liquéfie la gélatine et coagule le lait avec peptonisation ultérieure.

D'après ces propriétés, nous rangeons cet organisme dans le genre Fusarium Link, d'après les indications de Rabenhorst. Il fait partie du sous-genre des Eufusariums Saccardo et rentre dans la section de Fusisporium Link. Ses propriétés morphologiques et biologiques le rapprochent le plus du Fusarium coeruleum (Lib.) Sacc., par sa pigmentation, la constitution morphologique de ces conidies et ses propriétés biologiques. Nous proposons par conséquent pour notre organisme la dénomination de Fusarium coeruleum var. cellulosae en nous basant sur ces propriétés cellulophages que nous allons examiner dans un chapitre ultérieur.

Aspergillus fumigatus var. cellulosae.

L'isolement de ce parasite de papier a été obtenu au moyen des techniques indiquées antérieurement. L'organisme ainsi obtenu a été soumis à l'examen de ses propriétés morphologiques et biologiques. Pour établir les caractères morphologiques, nous avons employé le milieu de Sabouraud maltosé gélosé qui constitue un substrat très favorable. La culture commence déjà après 24 heures à former un thalle blanchâtre, qui, vers le troisième jour, commence à se pigmenter en vert. La coloration passe ensuite au vert-bleuâtre et devient finalement gris foncé couleur fumée. Déjà au bout de 6 à 8 heures, nous notons la formation de petites colories pulvérulentes. Les filaments, à ce moment encore hyalins, transparents, deviennent par la suite brunâtres. Après 72 heures de culture, les éléments ont acquis leur maturité et les dimensions que nous avons pu mesurer, sont les suivantes :

Filaments mycéliens : largeur 2 à 3 μ, longueur jusqu'à 1000 μ.

Hyphes conidiophores : largeur 2 à 5 μ, longueur jusqu'à 1000 μ.

Ampoules conidiophores : 20 à 27 μ, longueur 23 à 30 μ.
Stérigmates : atteignant 6 à 10 μ.
Conidies : 1 à 3,5 μ.

Les hyphes sont droits, dressés et non ramifiés, les stérigmates sont courbées non ramifiées et insérées seulement sur la moitié supérieure de l'ampoule conidiophore. Les conidies naissent à l'extrémité des stérigmates formant de longues chaînettes constituées de spores ovalaires au début devenant sphériques en vieillissant.

La reproduction sexuée par formation de périthèce n'a pas pu être observée au cours de nos expériences, et même dans les prélèvements effectués dans les lésions des papiers parasités directement, nous n'avons pu constater la présence de ces appareils sexués.

Nous avons d'autre part examiné la croissance de notre organisme sur différents autres milieux.

Le milieu de moût de bière gélosé au pH de 6,8 à 7 constitue un milieu assez favorable permettant une culture

abondante et rapide. La sporulation est un peu retardée et la pigmentation du thalle s'effectue par conséquent plus lentement.

Le milieu de pomme de terre donne une culture luxuriante avec une riche et rapide sporulation. Au bout de 4 à 5 jours, tout le milieu est envahi par le tapis mycélien et présente une coloration noirâtre fumée.

Le milieu de carottes nous a permis de faire les constatations analogues à celles observées sur les pommes de terre.

Sur bouillon ordinaire ajusté à un pH de 7,6 à 7,8, il se forme un voile superficiel mince, sec et restant très longtemps blanchâtre. La sporulation apparaît tardivement aux parois du tube. Après une dizaine de jours, le milieu se trouble et il se forme un dépôt crémeux dans la profondeur du tube.

Propriétés biologiques.

L'optimum cultural sur milieu Sabouraud maltosé est situé entre 22 et 27°. La concentration optima en ions H de ce milieu est de pH=6,4.

Le milieu gélosé au rouge neutre est réduit après 4 jours de culture à +27 ou +37°.

Le milieu de bouillon péptoné gélatiné au pH=7,4 donne une culture chétive restant longtemps blanchâtre. La gélatine est cependant liquéfiée déjà après 3 à 5 jours de culture à +22°. Le milieu de sérum de cheval coagulé fournit de même une culture faible sans liquéfaction du sérum après quatre semaines de culture.

Le blanc d'œuf coagulé introduit dans le bouillon de Raulin n'est pas attaqué par l'organisme dans le même laps de temps.

Sur le lait écrémé il se forme un voile à la surface du milieu et la formation des conidies apparaît au quatrième ou cinquième jour. Vers le huitième jour, les colonies présentent une coloration noir fumée. A ce moment, le coagulum qui s'était formé dès le troisième jour de la culture, commence à se dissoudre et on assiste à une alcalinisation du lait accompagnée de la peptonisation de la caséine.

Recherches sur l'assimilation des sucres.

Nous avons encore ici employé les mêmes techniques décrites déjà antérieurement pour le Cladosporium herbarum. Nous exprimons les résultats trouvés dans le tableau qui suit:

TABLEAU V

Sucres	Sucres disparus %	Récolte : mycélium sec %	Formation de gaz
Glucose	28,43	64,90	néant
Lévulose	9,40	22,30	néant
Galactose	31,70	71,83	néant
Saccharose	32,60	70,28	néant
Maltose	41,33	100	néant
Lactose	25,36	44,25	néant
Mannose	28,62	59,98	néant

D'après ces constatations, on note que l'organisme assimile le mieux le maltose, il tire cependant un profit assez prononcé pour ses pouvoirs énergétiques du glucose, du galactose, du saccharose et du mannose. En général, l'organisme se développe d'une façon satisfaisante sur tous les milieux hydrocarbonés.

Cultures en anaérobiose.

Nous avons examiné la croissance de l'organisme en cultures d'anaérobiose dans les mêmes conditions que celles indiquées précédemment dans l'étude des autres parasites de la cellulose.

Nous avons pu constater que l'organisme pousse aisément dans des cultures placées dans l'étuve d'Adnet contenant une atmosphère rarifiée en oxygène. La sporulation est cependant très nettement retardée.

Conclusion.

D'après les caractères morphologiques d'une part, et les propriétés culturales et biochimiques de l'autre, notre organisme rentre dans le genre *Aspergillus*. La constitution de l'ampoule conidiophore, la forme et l'insertion des stérig-

mates, la réaction de la matière colorante des conidies nous permettent de le ranger dans le stirpe *fumigatus* (Constantin et Lucet) (50) d'après la classification de Blochwitz (51) : Aglobosi (4e sous-genre).

L'absence de périthèce l'éloigne de l'Aspergillus malignus, les dimensions des différents éléments et l'aspect morphologique de l'ampoule conidiophore le différencie des espèces Aspergillus conicus et pénicilloïdes.

Nous donnons ci-joint un tableau qui permet de constater les relations entre notre espèce et l'*Aspergillus fumigatus Fresenius* d'un côté et l'*Aspergillus cellulosae Hopfe* de l'autre.

TABLEAU VI

	Asp. fum. Fres.	Asp. cel. Hopf.	Aspergillus expérimenté
Ampoule	10 à20x30 à40	4 à 6 ×7 à 11	23 à30x20 à27
Stérigmates ...	6 à 15×1 à 4	3 à 4,5×2	6 à 10×2 à 3
Anaérobie	Néant	Facultatif	Facultatif
Optimum cultural	+37°	+35 à 37°	+27°
Pouvoir cellulophage .	Néant	++	+

Il ne nous semble pas utile, vu ces caractères différentiels très peu prononcés entre ces trois espèces, de créer un type nouveau; c'est pour cette raison que nous proposons pour l'organisme en étude le nom de *Aspergillus fumigatus var. cellulosae.*

Monilia cellulosophaga n. sp.

Cette espèce qui a été isolée par nous au moyen des méthodes indiquées dans un chapitre précédent, et que nous avons mis à la disposition de notre ami Widder pour ses études concernant l'action inhibitrice de différents antiseptiques sur nos organismes cellulophages, se cultive relativement facilement sur tous les milieux nutritifs. Elle végète très bien sur cellulose pure. Des bandes de papier placées

dans des jus de pomme de terre et de carotte ont donné dans leur partie supérieure (au-dessus du liquide) des petites colonies blanchâtres, qui ont grandi très vite et formé facilement des voiles ; ces voiles ne s'étalent pas sur toute la surface du milieu; de plus ils sont très fragiles; le milieu de culture reste clair et dans le fond du tube de culture on aperçoit des masses floconneuses. La cellulose est fortement attaquée et dilacérée. L'organisme a été ensemencé sur milieu de Sabouraud maltosé gélosé, où il a montré une certaine luxuriance. A +37° on obtient au bout de 48 heures des colonies de 0,6 cm. à 1 cm. de diamètre ; la partie centrale est surélevée et présente un cratère; toute la colonie est fortement tourmentée, mate, légèrement visqueuse, blanc-jaunâtre; à la périphérie, elle devient lisse avec 2 ou 3 cercles concentriques; au moyen de la loupe, on distingue, se dirigeant vers l'extérieur, des filaments plus ou moins corémiés, très longs, les uns minces, les autres épais. Le mycélium est très cloisonné, à parois épaisses à double contour. On observe par l'examen direct à travers les parois des tubes de cultures des chaînes de conidies en forme de citrons; suivant l'âge, elles sont plus ou moins distantes; d'autre part, on voit sur les filaments fortement cloisonnés de place en place des cellules plus grandes, se colorant fortement au moyen du bleu lactique ou du bleu de méthylène. Ces cellules forment le point de départ de verticilles irrégulièrement disposés de très courts rameaux secondaires qui portent des sortes de phialides, sur lesquelles s'insèrent des chaînettes de conidies plus petites que les précédentes.

Les cultures âgées sont fortement mamelonnées et présentent un aspect cérébriforme; certains filaments sont fortement cloisonnés; on constate la présence de chaînes de grandes cellules levuriformes, elliptiques, ovalaires ou en forme de citron, plus ou moins rattachées les unes des autres; leur protoplasme est granuleux; par montanisation énergique, les chaînettes se désagrègent et la préparation semble être celle d'une levure.

Ces caractères nous ont fait penser à une Monilia ou à un champignon levuriforme; c'est pourquoi nous avons effectué sur l'organisme différentes recherches morphologiques et biologiques établies d'après Langeron et Talice (52).

Caractères culturaux : Milieux liquides : Sur eau de pomme de terre à la température de +37°, formation de colonies astéroïdes présentant les caractères que nous avons exposés, au début de notre étude. A l'examen microscopique, les voiles sont constitués par de longs filaments plus ou moins ramifiés, fortement cloisonnés; les différents articles mycéliens sont très cohérents et donnent naissance de place en place à de petits verticilles de phialides portant des chaînettes de conidies.

Sur liquide de Raulin acide, bouillon glucosé à 4 %, eau de pommes de terre peptonée, sérum liquide, les caractères morphologiques et culturaux sont à peu près identiques; on constate toujours la présence de filaments longs, cloisonnés; dans les cultures âgées, les cellules levures prédominent. Les conditions de culture les plus favorables sont données par l'eau de pomme de terre à la température de +37°.

Sur lait ordinaire, la culture est très luxuriante, bien meilleure que sur le liquide de Raulin; il y a coagulation avec peptonisation ultérieure; le lait tournesolé vire au rouge dès les premiers jours puis, plus tard, se décolore.

Milieu solide : Les principaux caractères ont été indiqués plus haut à propos du milieu de Sabouraud maltosé gélosé; au commencement (de 24 à 72 heures), l'examen microscopique montre des cultures filamenteuses; ensuite il se produit un cloisonnement de ces filaments et l'aspect levuriforme prédomine dans les cultures. En observant les colonies sur leur face inférieure adhérente au milieu, on constate une disposition radiaire des filaments corémiés qui pénètrent dans le substrat solide. Sur milieu gélosé avec 4 % de dextrine et 1 % de peptone, l'aspect a été identique et la culture présentait la même luxuriance.

Sur moût de bière gélatiné, il y a liquéfaction dès le deuxième jour; à la suite de la filamentisation intense du champignon et des nombreuses ramifications formées, cette liquéfaction est difficilement constatable sur boîtes de Pétri et s'observe beaucoup plus facilement dans les cultures en piqûre.

Action sur les hydrates de carbone : Les sucres suivants ont été ajoutés au milieu minéral selon la technique décrite

antérieurement : glucose, lactose, maltose, saccharose, lévulose, mannose, galactose, dextrine. Nous avons employé le tube B de Besson pour l'étude des fermentations. Nous avons obtenu les résultats suivants en ce qui concerne l'assimilation des divers hydrates de carbone expérimentés.

TABLEAU VII

Sucres	Sucres disparus %	Récolte : mycélium sec %	Formation de gaz
Glucose	48,72	76,30	+
Lévulose	—	—	néant
Galactose	36,55	70,83	+
Saccharose	55,60	100	+
Maltose	50,32	100	+
Lactose	—	—	néant
Mannose	32,40	72,50	+
Dextrine	++	75,20	+

D'après ces résultats, on constate que notre organisme assimile d'une façon analogue le maltose et le saccharose; les monoses, glucose et galactose constituent des aliments un peu moins favorables. Le lévulose et le lactose par contre ne sont pas dégradés par cette levure.

Matières quaternaires : L'organisme pousse d'une façon satisfaisante sur le milieu peptoné; il alcalinise les milieux azotés avec production d'abondants cristaux de phosphates ammoniacomagnésiens. Il ne pousse pas sur les milieux ammoniacaux.

Dimensions : Les mensurations ont été pratiquées sur eau peptonée et Sabouraud maltosé après la première et la troisième semaine de culture.

Hyphes : 1,6 à 2,4 μ de largeur.

Macroconidies :

Après la première semaine : 3 μ × 4,5 μ
Après la troisième semaine : 2,4 μ × 3,9 μ

Microconidies :

Après la première semaine : 1,7 μ × 2,1 μ
Après la troisième semaine : 1,4 μ × 2 μ

En nous reportant à la classification donnée par Langeron et Talice et en égard aux caractères morphologiques et biologiques suivants, présentés par notre espèce :

1° Colonies duveteuses formées d'un véritable mycélium cloisonné, non fragile.

2° Présence de conidiophores, de phialides et de véritables conidies.

3° Formation acrogène des conidies. Macroconidies apparaissant en un point quelconque aux dépens d'un ou de plusieurs articles; microconidies prenant naissance à l'extrémité de phialides.

4° Espèce non thermophile mais dont la forme filamenteuse est luxuriante à + 37°; le meilleur milieu pour la filamentisation est l'eau de pomme de terre (pH en alcalose).

5° Les cultures sur blocs de plâtre et sur milieu de Gorodkowa ne nous ont jamais permis d'observer une forme sexuée.

6° Espèce végétant sur la cellulose pure.

Nous la faisons rentrer dans le genre Monilia Gmelin 1791 (groupes Gmelin et Woronin, sensu Vuillemin) et nous proposons pour elle la dénomination de *Monilia cellulosophaga n. sp.*

Actinomycès cellulosae Krainsky.

On sait que les Actinomycès sont très répandus dans la nature et constituent surtout un facteur important de la flore de la terre humique. Ces organismes ont été, il y a une vingtaine d'années, encore considérés comme des bactéries et il fallait les travaux de Beijerinck (53), de Hiltner (54), de Neukirch (55) pour différencier les Actinomycès des bactéries proprement dites. Aujourd'hui, le cryptogamiste, et surtout les bactériologistes, étudiant la flore du sol, n'ont plus l'habitude d'employer des milieux à base de bouillon de peptone, mais ont recours aux infusions de terre même. De cette façon l'identification de ce groupe de microorganismes est devenue très facile et on est arrivé à isoler et à caractériser une multitude d'espèces différentes. Des émulsions de terre qui ont été ainsi examinées en plaque gélosée ont été

contaminées jusqu'à 40 à 60 % d'Actinomycès. Pour isoler ces organismes, on emploie avec profit un milieu de composition suivante : glucose 10 gr., phosphate bipotassique 0,5 gr., asparagine 0,5 gr., gélose 15 gr., eau distillée 1000 cc. Sur ce milieu on constate l'apparition des artrospores et du mycélium filamenteux.

Ces éléments sont d'une très grande importance pour la culture du sol car ils interviennent dans tous les processus de dégradation des substances organiques. La décomposition d'une matière albumineuse dans le sol est intéressante parce que les Actinomycès ne retiennent dans leur mycélium fin et peu développé presque pas d'azote. De cette façon, la plus grande partie de l'azote résultant de la dégradation protéinique par ces organismes, devient libre sous forme d'ammoniaque et est ensuite transformée en hydrate ou en salpêtre par les bactéries nutrifiantes du sol. Les Actinomycès se comportent donc à l'inverse des bactéries : tandis que ces dernières assimilent une forte proportion d'azote, si elles se trouvent en présence d'un substrat riche en substances hydrocarbonées, et retirent ainsi une forte proportion d'azote du sol, les Actinomycès n'utilisent nullement la grande quantité d'azote qu'ils libèrent. De cette façon ces organismes se distinguent fortement des bactéries cellulophages du sol. En effet, ces organismes mettent d'autant plus d'ammoniaque en liberté que la proportion de substances hydrocarbonées est plus riche. Il est prouvé aujourd'hui que la décomposition de la cellulose dans la nature est l'œuvre des Actinomycès. Il est très probable que la coloration foncée des substances humiques est imputable en grande partie à l'action assimilatrice de ces organismes, car la plupart des Actinomycès est apte à sécréter des pigments diffusibles qui, en présence d'une oxydase, donnent au substrat organique une coloration brun-noirâtre. Ces organismes ont aussi une part très active dans la décomposition de la lignine, substance qui n'est guère attaquée par les bactéries et qui ne sert comme source d'énergie qu'aux champignons.

Pour l'isolement de ces organismes, pour l'étude du sol, Cohn (56) emploie la méthode suivante : On met sur une lame une petite portion de terre d'environ 0,01 gr., on y ajoute 2 à 3 gouttes d'eau distillée et on mélange au moyen de fil

de platine. On ajoute ensuite 1 à 2 gouttes de solution aqueuse saturée de bleu de méthylène et on examine au microscope. On trouve ainsi dans presque toutes les portions de terre examinée des fragments mycéliens des Actinomycès.

L'évolution morphologique et biologique de ces organismes occasionnant des maladies de plantes et des animaux et surtout de l'homme, a été étudiée avec beaucoup de soin tout récemment dans le Laboratoire du Prof. A. Sartory, par Antonioli (57) et P. Monal (58). Nous n'insistons pas sur les détails de ces analyses et procédons tout de suite à la description de notre espèce.

L'isolement à partir de feuilles de papier parasitées a été réalisé de la façon suivante : on coupe des rondelles (de la grandeur d'une boîte de Pétri) du papier à examiner qu'on introduit dans cette boîte. Nous y ajoutons une mince couche du milieu suivant : phosphate bipotassique 0,5 gr., sulfate d'ammoniaque 0,5 gr., gélose 15 gr., eau du robinet 1000 cc. Ce substrat stérilisé est étendu avant solidification sur la rondelle du papier parasité. La culture a été placée à + 27° et les colonies ont évolué avec une coloration jaunâtre dans ce milieu.

Les propriétés morphologiques ont été examinées sur milieu de Sabouraud maltosé. Les colonies prennent sur ce milieu un aspect jaunâtre, poudreux et sont constituées à l'examen microscopique par des filaments très minces ne dépassant pas 1 μ, très fragiles et fortement ramifiés, on constate en plus la présence des spores formées par fractionnement à l'extrémité des filaments légèrement boursoufflés. Ces artrospores mesurent de 0,7 μ à 2 μ.

L'actinomycès forme sur ce milieu un pigment qui diffuse à travers le substrat. Celui-ci prend au début une teinte jaune-brunâtre qui, dans les cultures âgées de 10 à 15 jours, devient noirâtre. Il doit donc s'agir ici d'un pigment proprement dit et d'une oxydase.

La température optima de culture est située aux environs de 30 à 32°, l'organisme pousse sensiblement pareil à 22 et à 35°. L'évolution est arrêtée si on place la culture à 40°, mais la croissance continue encore avec retard à + 12°.

L'optimum de la concentration en ions H du milieu est situé entre les pH = 7 à 7,2.

Caractères culturaux: Sur milieu de *Sabouraud glucosé* le développement de l'organisme est aussi favorable que sur le milieu précédent. La formation du pigment est plus facilement constatable sur ce substrat qui prend une teinte nettement jaunâtre; celle-ci, avec l'âge, devient jaune orangé.

Sur *jus de pomme de terre gélosé,* la poussée de l'organisme est macroscopiquement constatable après 48 heures de culture. Il se forme des colonies poudreuses, grénues. En vieillissant, on obtient une traînée homogène avec une partie médiane surélevée mamelonnée, tandis que la périphérie est formée de stries radiaires fortement enfoncées dans l'intérieur du milieu, constituées par des filaments mycéliens ramifiés. La coloration est jaune orangé dans les parties profondes du tube de culture et passe au jaune dans les parties supérieures du tube vers l'extrémité ouverte, bouchée au coton.

Sur *bouillon gélosé,* l'évolution est moins bonne, les colonies restent petites et prennent un aspect poudreux et crayeux. Le milieux de *pomme de terre* ou de *carotte* constitue un substrat assez satisfaisant. Il se forme une pellicule à la surface de la pomme de terre qui, avec l'âge, devient brun-jaunâtre. On constate sur ces milieux une grande abondance de filaments aériens qui évoluent par repiquage successif et donnent des cultures pléomorphiques.

Sur milieu de *Raulin liquide,* ou sur *bouillon* au pH 6,8 à 7,2, on constate d'abord la formation de petites colonies isolées nageant à la surface du milieu. Il se forme ensuite des colonies superficielles assez vigoureuses et, dans le fond du tube, on constate un dépôt grumeleux abondant. Après 15 jours de culture, il se forme un voile compact à la surface du liquide nutritif, formé principalement par les hyphes aériens. Cette pellicule adhère fortement aux parois du tube et reste blanche. Le substrat même se colore légèrement en jaunâtre.

Assimilation du sucre

Pour constater l'action dégradatrice de notre organisme sur les hydrates de carbone, nous avons encore eu recours aux mêmes techniques déjà citées pour les organismes antérieurement étudiés :

Les résultats trouvés sont exprimés dans le tableau suivant :

Tableau VIII

Sucres	Sucres disparus %	Récolte : mycélium sec %	Formation de gaz
Glucose	23,47	81,50	+
Lévulose	—	—	—
Galactose	27,43	82,53	+
Saccharose	31,83	99,09	+
Maltose	34,37	100,—	+
Lactose	16,32	65,50	+
Mannose	17,72	60,75	+

Pour contrôler l'assimilation de l'amidon par notre champignon, nous avons préparé un milieu gélosé de composition suivante : amidon 10 gr.; gélose 10 gr.; carbonate de chaux 3 gr.; sulfate d'ammonium 2 gr.; phosphate bicalcique 1 gr.; chlorure de sodium 1 gr.; sulfate de magnésium 1 gr.; eau 1000 cc. On obtient ainsi un milieu d'un aspect laiteux légèrement trouble, qu'on introduit dans les boîtes de Petri et qu'on ensemence par la touche au moyen du fil de platine chargé. Après 5 jours de culture à + 27°, il s'est formé dans la boîte de Petri des petites colonies encore toujours isolées. Par addition de quelques gouttes d'une solution iodo-iodurée, on constate que les endroits périphériques aux colonies actinomycétiques restent incolores, tandis que le reste de la surface de la boîte de Petri se colore en bleu. L'actinomycès en étude assimile donc l'amidon par sécrétion d'une diastase exogène.

Propriétés biologiques

Le milieu de *jus de pomme de terre gelatinée* au pH = 7,2 donne une culture très satisfaisante blanchâtre. La gélatine est liquéfiée à partir du troisième jour de culture à + 27°.

Le *sérum de cheval coagulé* est un milieu très médiocre; il se forme des colonies très petites qui deviennent ternes et poudreuses. Le milieu ne présentait aucune liquéfaction après quatre semaines de culture. Le milieu de *Raulin liquide*

additionné de petits cubes de *blanc d'œuf coagulé* a donné une culture satisfaisante. Le blanc d'œuf est cependant inaltéré après quatre semaines. Sur *lait*, évolution lente qui donne une coloration jaunâtre avec coagulation dans les douze premiers jours et peptonisation de la caséine à partir de la troisième semaine de culture.

Nous pouvons donc résumer les caractères biologiques de l'espèce en étude de la façon suivante : assimilation de tous les sucres mis en expérience sauf le lévulose, digestion de l'amidon, liquéfaction de la gélatine, sécrétion d'un ferment lab et d'une caséase, action protéolytique nulle en présence du sérum coagulé et du blanc d'œuf, pouvoir cellulolytique fort. Tous les milieux ensemencés ont présenté une odeur de moisi.

Culture en anaérobiose

Les mêmes milieux indiqués ci-dessus ont été employés pour la culture en anaérobiose au moyen de l'étuve d'Adnet. Nous avons pu constater que notre Actinomycès est un anaérobie facultatif.

Conclusion

Considérant ces caractères microscopiques, culturaux et bio-chimiques, notre organisme se classe d'après LANGERON (59) dans le groupe de *microsiphonés* genre *Actinomycès* Harz, sous-genre *Euactinomycès*, sous-section *Majores*, caractérisé par son aérobie, pouvant vivre aussi en anaérobie, produisant des artrospores avec des filaments nettement développés et ramifiés, prenant le Gram et non acido-résistant, culture odorante répandant une odeur de moisi, liquéfiant la gélatine, produisant une diastase qui digère l'amidon, sécrétant un pigment diffusible jaunâtre et possédant un pouvoir cellulolytique prononcé. D'après ces caractères nous nous croyons en droit de pouvoir identifier notre espèce avec *l'Actinomycès cellulosae* KRAINSKY.

Chapitre II

Reproduction expérimentale des altérations des papiers par ensemencement en cultures des champignons cellulophages.

Les champignons, que nous avons pu isoler, présentaient au moment de leur isolement des formes particulières, que nous avons tenu à examiner chaque fois tout spécialement. Ce fait n'est pas étonnant, car le papier, composé presque exclusivement de cellulose pure, constitue un milieu très pauvre. Il a d'autre part des propriétés physiques spéciales qu'on ne peut négliger si on l'envisage du point de vue possibilité de culture. C'est un milieu très hygrométrique, mais se desséchant par contre très rapidement. Ces propriétés sont encore plus exagérées pour les papiers buvards que pour les papiers collés.

Ainsi nous pouvons distinguer deux sortes d'organismes charticolles. Un premier groupe se développe sur le papier sans présenter des modifications morphologiques appréciables, nous y mentionnons le *Fusarium*. Le deuxième groupe par contre végète sur les matières cellulosiques au moyen d'appareils mycéliens ou sporifères profondément modifiés, souvent absolument méconnaissables par comparaison avec les formes évolutives caractéristiques du même organisme à propriétés culturales définies et fixées. Toutefois, nous insistons sur le fait que ces formes modifiées se présentent pour une espèce donnée et dans les conditions habituelles d'observation toujours identiques. Nous citons comme exemple du deuxième groupe notre *Cladosporium* et le *Monilia*.

Ces champignons, examinés sur le papier ou la cellulose pure directement, forment des colonies, qui ont aussi deux aspects tout à fait différents :

Une catégorie de ces parasites occasionne une lésion du papier, en se développant sur toute la surface de celle-ci et on constate dans ce cas à l'examen microscopique un enchevêtrement intime des éléments cryptogamiques avec les fibres cellulosiques sur toute l'étendue de la tache lésée. La lésion du papier et la colonie du champignon ont donc la même dimension et se superposent directement.

Dans l'autre cas, nous avons constaté que la colonie mycélienne occupe seulement le centre de la lésion, cette dernière prenait cependant des dimensions beaucoup plus étendues et en humectant le papier, on constate alors comme une large auréole autour de la petite colonie centrale.

Nous croyons que ce fait est en rapport avec les propriétés diastasiques des parasites. Les premiers ne doivent produire que des enzymes cellulolytiques strictement endogènes, tandis que dans le second groupe le ferment doit être facilement diffusible et envahit alors la cellulose d'une façon centrifuge.

Le plus souvent les lésions que nous avons pu mettre en évidence soit directement, soit au moyen des artifices déjà signalés, sont produites par un seul organisme. L'isolement n'est donc nullement difficile. Sur quelques papiers fortement collés, épais, nous avons cependant constaté une sorte d'association de deux espèces : Ainsi le Fusarium était très souvent accompagné d'un champignon du genre *Stachybotrys Corda*. L'isolement de ces deux organismes est très difficile et nous l'avons réussi seulement après plusieurs mois de repiquages successifs. Nous n'avons pas insisté sur l'étude de ce Stachybotrys, puisqu'il ne possède, d'après nos expériences préliminaires, aucune action cellulophage, il secrète uniquement un pigment noir très prononcé et il produisait en culture artificielle un effet particulier sur notre Fusarium qui se développait en présence du Stachybotrys sous forme d'un mycélium corémié.

Une autre association sur le même genre de papier était rencontrée à plusieurs reprises. C'était une symbiose entre notre Actinomycès avec le Monilia, mais ici nous avons affaire à deux organismes cellulolytiques tous deux.

Les champignons sont en général fixés de deux façons sur la cellulose. Les uns poussent directement à la surface

du papier et peuvent en être ainsi très facilement détachés au moyen d'une aiguille. Ces organismes se développent sur le papier au moyen d'appareils reproducteurs asexués d'origine externe; nous y citons les Aspergillées.

Les autres parasites se brisent habituellement au moindre essai de traction dans un but d'enlèvement. Ces éléments sont fortement attachés et enfouis dans les fibres cellulosiques.

Ils sont caractérisés par la présence d'éléments reproducteurs ou plutôt de conservation, très cutinisés et pigmentés. Le plus souvent ces formes sont disposées en chapelets irréguliers ou en petits groupes plus ou moins polymorphes avec des vestiges de filaments mycéliens très peu développés. L'exemple type pour ces champignons est le Cladosporium herbarum, var. cellulosae et notre Monilia.

Après avoir ainsi constaté le pouvoir cellulolytique et le mode de fixation et d'attaque de nos champignons sur le papier parasité spontanément, il nous a semblé intéressant d'étudier l'action cellulolytique de nos organismes par inoculation directe de papier stérile employé pour la culture suivant les techniques que nous avons décrites antérieurement. Les bandes de papier soigneusement examinées au préalable, ont été introduites dans les tubes de Roux et dans les tubes de Borrel pour être stérilisées à l'autoclave à + 105°. Nous les avons ensuite, après refroidissement, ensemencées par piqûre au moyen d'une aiguille de platine chargée avec le champignon dont nous nous sommes proposé l'étude. Les cultures sont placées à l'étuve à + 27°.

On constate tout d'abord la formation d'une tache au bout de quelques jours, qui présente la pigmentation caractéristique de chaque organisme et comparable aux colonies ayant poussé spontanément sur le papier. Les Actinomycès et les Monilia pures forment des altérations incolores, beaucoup plus tardivement constatables à l'œil nu. En général, les taches formées par les colonies atteignent seulement après plusieurs semaines, parfois plusieurs mois, leur développement complet et prennent alors la forme, l'étendue et la coloration définitive et caractéristique, ressemblant aux macules des papiers piqués naturellement.

Ces taches se forment plus rapidement que l'attaque proprement dite des fibres cellulosiques. La destruction partielle de celles-ci est un phénomène tardif et apparaît seulement au bout de quelques mois. La perforation des bandes de papier est encore plus longue à se produire, il nous fallut des périodes variant entre plusieurs mois et deux ans pour réaliser, par la technique ici employée, ce phénomène.

A l'examen microscopique, nous avons pu constater : Pour l'Aspergillus fumigatus, var. cellulosae : le mycélium est très peu développé dans ces conditions. La formation des conidies est très précoce et donne très tôt une coloration noirâtre à la colonie. Les spores sont enfouies entre les espaces interstitiels des fibres cellulosiques et n'ont aucune action lytique. Les rares conidies qui ont germé pour donner naissance à un court mycélium fortement cloisonné sont les seuls éléments lésant les membranes cellulosiques pour pénétrer à l'intérieur de la fibre. Celle-ci prend alors une teinte jaunâtre et se disloque ensuite.

Le Fusarium cœruleum var. cellulosae présente absolument dans les cultures jeunes sur papier les caractères de cultures sur carottes. Le mycélium formant un gazon peu dense, à aspect ouaté, est constitué par des filaments stériles d'abord blancs qui deviennent ensuite jaunes et plus tard bleu-violacé. Jamais on n'observe dans ces cultures sur papier de formes sporulées. Au bout de 2 à 3 mois, on constate à l'examen microscopique la présence d'éléments mycéliens fortement cutinisés et qui donnent alors à la tache son aspect noirâtre. Ces éléments ont un pouvoir cellulolytique très net et on voit des formes fortement cloisonnées fumagoïdes à l'intérieur des fibres cellulosiques fortement boursouflées et en état de désagrégation.

Le Cladosporium herbarum var. cellulosae présente un état jeune et, dans ces cultures artificielles sur papier un aspect rappelant celui de l'organisme évoluant dans des conditions normales, toutefois, la poussée est moins luxuriante et plus diffuse. Déjà au bout de 2 à 3 semaines le mycélium commence à se disloquer et à se cloisonner pour donner naissance à ces formes de résistance caractéristiques du genre et qu'on peut considérer comme des spores de conservation. Ces éléments et les conidies vraies se présentent

plus tard avec des membranes très épaissies, fortement accolées aux fibres cellulosiques partiellement détruits auparavant par les formes évolutives proprement dites de l'espèce. Le pouvoir cellulolytique de cet organisme est très prononcé et la destruction du papier s'effectue dans un temps assez court; en effet, la perforation du papier peut être déjà constatée ici dans les cultures artificielles au bout de trois mois. Nous insistons cependant sur le fait que cette altération est strictement localisée à l'étendue de la colonie mycélienne même, qui ne semble pas causer une diffusion exogène de l'enzyme cellulotytique.

Ce fait se manifeste tout autrement chez les deux organismes que nous envisageons à présent, le Monilia cellulosophaga et l'Actinomycès cellulosae. Ces deux champignons se distinguent, en effet, des autres organismes cellulophages tels que nous les avons pu étudier. A l'examen microscopique, on constate que les deux organismes évoluent presque exclusivement sous forme de spores ou de conidies-levures sur les fibres cellulosiques qu'ils entourent intimement, formant une sorte de manchon. La constitution extérieure des fibres cellulosiques est moins longtemps conservée et au bout de trois mois on constate la disparation complète des membranes cellulosiques des fibres, en même temps que de grandes modifications morphologiques dans l'intérieur des fibres (l'aspect jaunâtre). La destruction complète des feuilles de papier s'observe seulement vers le cinquième mois et on assiste alors à une dilacération complète du papier. La destruction se fait donc ici d'une façon très intense et il semble que ces deux champignons secrètent des diastases à l'extérieur pour accomplir la destruction cellulosique et pour transformer ces matières en substances assimilables.

L'exactitude de cette hypothèse est prouvée aussi par la dissolution de la cellulose à des distances périphériques assez éloignées du siège de l'invasion cryptogamique du papier. Les colonies restent cependant très longtemps blanchâtres et sont absolument invisibles pendant les premières semaines si l'on n'a pas recours aux artifices déjà mentionnés

L'infection artificielle du papier reproduit donc, à la condition d'attendre un temps suffisamment long, d'une façon

absolument comparable, les caractères macroscopiques et microscopiques de celles que nous avons eu l'occasion d'étudier sur les papiers spontanément parasités.

Nous voyons donc qu'en égard aux conditions extérieures et à l'espèce envisagée, le temps joue un grand rôle dans la destruction du papier et de la cellulose. Comme nous l'avons déjà dit, les spores qui ont été déposées sur la surface ou incorporées dans l'intérieur de la pâte au cours de la fabrication, peuvent vivre à l'état latent pendant un temps très long. C'est cette question qu'il nous a fallu étudier encore ici.

A cet effet nous avons employé des cultures absolument desséchées ayant été effectuées, il y a deux ans, au moyen de bandes de papier placées dans les tubes de Borrel, stérilisés et fermés pendant toute cette période. En repiquant ces vieilles cultures dans des milieux de carottes, elles ont toujours très rapidement commencé à évoluer pour donner au bout de quinze jours à trois semaines des cultures normales en ce qui concerne le Cladosporium, l'Aspergillus et le Fusarium. Le même fait a pu être réalisé pour le Monilia et l'Actinomycès en employant un milieu de Sabouraud maltosé solide. On voit donc que ces organismes peuvent vivre à l'état latent pendant un temps très long et ne germer qu'au moment où les circonstances leur deviennent favorables. Mais nous n'avons pu faire cette constatation que pour des cultures âgées, restées en état de pureté à la suite de la fermeture continuelle du tube de Borrel ou des autres récipients de culture employés. Des papiers infectés, mais moins soigneusement conservés, ne nous ont très souvent pas permis d'obtenir par repiquage sur milieu favorable des nouvelles cultures. Dans ces conditions, nous avons pu faire deux constatations. Souvent nous avons obtenu une culture d'un organisme différent de celui isolé du papier infecté. Il semble donc qu'en vieillissant à l'air, le parasite du papier est lui-même contaminé par une moisissure ou une bactérie vulgaire, qui au commencement vit aux dépens des matières nutritives mises à sa disposition par le champignon cellulolytique, mais qui ensuite finit par le détruire et prend alors la place qu'il occupait.

Dans d'autres expériences nous avons aussi pu constater que ces papiers, restant plus ou moins en contact avec l'air

et le milieu extérieur étaient devenus stériles et le champignon parasite n'était plus apte à évoluer sur un nouveau milieu. Les essais de culture restèrent infructueux et le mycélium ou les spores sont sans doute morts à la suite de conditions extérieures défavorables.

Nous avons donc au cours de ces expériences pu démontrer que l'attaque des champignons cellulophages sur les fibres cellulosiques peut être constatée microscopiquement.

La destruction de la cellulose par ces microorganismes peut s'accomplir suivant deux procédés, soit par dissolution des parois de fibres, soit par une fluidification du contenu interne de celles-ci. Dans le premier cas, nous avons affaire à un champignon possédant des enzymes cellulolytiques exogènes, tandis que dans le deuxième cas, où la désagrégation s'effectue de l'intérieur à l'extérieur, il s'agit d'un parasite sécrétant uniquement des diastases endogènes.

La reproduction expérimentale des altérations des papiers par ensemencement en culture pure de champignons cellulophages isolés par nous était facilement réalisable et les lésions de la cellulose étaient absolument comparables aux symptômes spontanés du papier parasité.

Ces lésions sont de deux sortes suivant que l'organisme qui les engendre possède des propriétés diastasiques exo ou endogènes. La pigmentation des taches de papier est en rapport direct avec cette propriété enzymogène.

La durée de la vie des champignons dans le papier peut dépasser facilement deux ans et elle dépend des conditions de conservation ou de stockage des papiers.

Les parasites cellulophages peuvent être détruits par des autres microorganismes, ou ils peuvent périr à la suite de conditions défavorables extérieures.

La destruction des fibres cellulosiques a été déjà souvent examinée microscopiquement, mais on n'a jamais pu constater des faits univoques. Ainsi Heller dit qu'il n'a jamais pu observer à l'examen microscopique une assimilation de la cellulose par les champignons qu'il a examinés, Schellenberg mentionne aussi les mêmes constatations. Drechsel par contre mentionne qu'il lui a été possible de réaliser ces expériences en employant des cultures au moyen de chambres humides. Il a luté ses préparations entre lames et lamelles

à l'aide de vaseline pour empêcher l'évaporation. Vu les périodes assez longues qui sont nécessaires pour observer et suivre l'attaque de la cellulose par les champignons, nous avons cru nécessaire de modifier la technique indiquée par DRECHSEL et nous avons eu recours à la boîte de Borrel. Les cultures ont été effectuées dans ces petites fioles cylindriques à ajutage latéral des deux faces opposées, l'une est fixe constituant le fond du récipient de culture, l'autre face est constituée par une lamelle mince amovible pouvant se coller sur le rebord de la boîte pratiquée à cet effet. Nous avons fixé la lamelle au moyen de blanc d'œuf, l'ajutage est bouché au coton et nous stérilisons l'appareil à l'autoclave à la température de + 105° pendant 20 minutes afin de travailler dans des conditions de stérilité absolue. Après refroidissement, nous avons complété la fixation de la lamelle à l'extérieur à l'aide de cire à cacheter. Ce dispositif a été ensuite employé pour la culture en goutte pendante de nos organismes en présence de fibres cellulosiques préparées de la manière suivante.

Les feuilles de cellulose ou de papier ont été râpées pour obtenir une dilacération très fine qui permet d'observer sous le microscope pendant un temps assez long une ou deux fibres nettement séparées. Ces éléments dilacérés ont été ensuite lavés dans de l'eau distillée bouillie à trois reprises en les agitant dans un flacon stérilisé bouché à l'émeri. L'eau de lavage a été ensuite décantée et on a ajouté de l'eau distillée dans la proportion de ½. Cette émulsion est ensuite stérilisée à l'autoclave pendant une demi-heure à + 100°. Cette opération a été répétée encore deux fois les jours suivants pour obtenir un milieu absolument stérile. Celui-ci a été ensuite introduit par l'ajutage bouché au coton dans la boîte de Borrel posée sur la table, la lamelle en dessous. En agitant très légèrement la boîte, l'émulsion des fibres cellulosiques se partage d'une façon homogène et en couches minces sur la surface de la lamelle. On ensemence ensuite avec précaution 3 ou 4 fibres séparées en touchant légèrement leur surface au moyen du fil de platine chargé de la culture en expérience.

Afin d'examiner le pouvoir cellulolytique des spores des champignons en étude, nous avons procédé de la façon sui-

vante : On charge le fil de platine au moyen d'une culture âgée à sporulation luxuriante. Puis on entre avec le fil de platine dans la boîte de Borrel et on secoue par légère agitation celui-ci de façon à ce que les spores tombent directement sur les fibres, qu'on évite de toucher avec l'ensemenseur.

Le milieu cellulosique ainsi ensemencé au moyen de l'une ou de l'autre méthode, a été placé dans la boîte de Borrel à l'étuve à + 22°, toujours avec la lamelle tournée vers le bas. Afin d'éviter la dessiccation, nous avons, au fur et à mesure, ajouté deux ou trois gouttes d'eau distillée, stérilisée à l'aide de l'ajutage latéral de la boîte. Nous résumons ici les constatations que nous avons pu faire. L'Aspergillus fumigatus var. cellulosae ensemencé par la touche commence à attaquer la cellulose entre le huitième et le douzième jour de culture. Le champignon semble pendant tout ce temps être capable de vivre aux dépens des réserves nutritives emmagasinées sur les milieux de choix où nous l'avions prélevé. Les filaments mycéliens traversent les parois des fibres cellulosiques et la décomposition de celles-ci commence dans l'intérieur. A partir de ce moment, la végétation mycélienne augmente et la sporulation est à peine ébauchée. Après 25 à 30 jours, la culture présente encore toujours un aspect analogue, mais la décomposition de la cellulose a fait de grands progrès. Mais c'est seulement à partir de la sixième ou septième semaine que les contours des fibres cellulosiques commencent à devenir flous sous le microscope. A ce moment, le champignon ne présente plus de signes de croissance, cependant quelques jours auparavant on assistait à la formation exagérée d'appareils conidiens. A partir de cette période, la dégradation cellulosique est interrompue et l'aspect microscopique des cultures reste toujours semblable si on évite la dessiccation.

Dans le cas où l'on emploie des milieux à base de fibres de papier, l'évolution et la dégradation sont tout à fait identiques, avec cette différence que la culture commence déjà à pousser le deuxième jour après l'ensemencement, probablement par suite de la présence de substances nutritives contenues dans le papier et manquant dans les fibres de cellulose pure.

Les cultures réalisées au moyen d'ensemencement de conidies seulement, nous ont montré que ces spores étaient

incapables d'attaquer les fibres cellulosiques. La culture est restée à l'état latent pendant 20 à 26 jours. A ce moment, les conidies ont germé pour donner naissance à des courts filaments, qui, à partir du trentième jour environ, pénétraient à l'intérieur des fibres cellulosiques et nous avons assisté à partir de ce moment à l'instauration de l'assimilation cellulosique.

Le Fusarium cœruleum var. cellulosae ensemencé par la méthode de la touche est resté très longtemps (5 semaines environ) à l'état latent. A cette période, le mycélium a subi un cloisonnement intense avec formation de membrane fortement épaissie. Ces éléments de résistance sont les seuls capables d'attaquer la cellulose. La dégradation de celle-ci s'effectue d'une manière absolument identique à celle produite par l'Aspergillus fumigatus. On assiste tout d'abord à une fluidification de l'intérieur de la fibre cellulosique qui, au microscope devient plus transparent et réfringent, tandis que la structure morphologique reste invariable. La dégradation est ensuite arrêtée beaucoup plus rapidement que pour l'espèce précédente. Il semble se former des produits de dégradation qui empêchent ensuite l'action lytique de l'organisme et vers le cinquantième jour de la culture; celle-ci commence à se pétrifier.

L'organisme repiqué sur un nouveau milieu de choix est capable d'évoluer à nouveau en germant pour donner naissance à un mycélium filamenteux. Nous avons contrôlé la vitalité de ces formes de souffrance en réensemençant des cultures âgées de quinze mois et le résultat est toujours analogue.

Le Fusarium cœrulem ensemencé sur les fibres cellulosiques disposées dans les boîtes de Borrel au moyen de spores seulement, ne nous a pas permis de constater une attaque cellulosique. Les spores sont restées à l'état latent pendant quinze mois, temps pendant lequel nous avons effectué des contrôles de réensemencement, mais les fibres cellulosiques n'ont présenté dans les cultures initiales aucune modification.

Au contraire, si on considère les cultures effectuées en présence de fibres de papier au lieu de la cellulose pure, spores commencent à germer dans la première huitaine

et les jeunes filaments possèdent un pouvoir cellulophage assez prononcé car la destruction des fibres de papier se réalisait plus rapidement que dans les cultures décrites ci-dessus pratiquées avec des prélèvements mycéliens directement posées sur les fibres cellulosiques.

Nos observations en ce qui concerne le pouvoir cellulolytique du Cladosporium herbarum, nous ont permis de constater les mêmes processus lytiques que pour l'organisme précédent. L'attaque des fibres cellulosiques et du papier se fait ici aussi au moyen d'éléments fortement cloisonnés à membrane épaissie. Les seules modifications qu'on peut noter par comparaison avec le Fusarium, résident dans la rapidité avec laquelle les filaments mycéliens se transforment pour donner ces formes de résistance aptes à engendrer les enzymes cellulolytiques. La destruction se fait uniquement au niveau de l'insertion de ces éléments sur la fibre cellulosique, mais la culture se développe très activement et c'est pour cette raison que la destruction des fibres est ici de beaucoup plus prononcée par rapport aux deux organismes précédents.

L'ensemencement de la cellulose au moyen de spores provenant de culture âgée est capable aussi de donner des cultures qui évoluent très vite vers les formes cellulolytiques. L'attaque de la cellulose dans toutes ces cultures au moyen du Cladosporium s'observe au microscope généralement vers le troisième ou quatrième jour et l'assimilation continue sept à huit semaines dans les conditions expérimentales où nous nous sommes placés. La destruction de la cellulose est très prononcée et au moment de l'arrêt de la végétation du champignon, la structure des fibres cellulosiques est absolument méconnaissable sous le microscope.

La destruction de la cellulose et du papier par l'Actinomycès cellulosae et Monilia cellulosophaga se fait d'une manière tout à fait comparable. Les champignons ensemencés d'après les méthodes indiquées végètent très lentement sur le milieu et les colonies sont assez pauvres sous le microscope. Ce fait est tout à fait en contradiction avec le pouvoir cellulolytique. En effet, la désagrégation de la cellulose se constate déjà le troisième jour de la culture. La fibre de cellulose ou du papier commence tout d'abord à se rétrécir au niveau de la fixation de la colonie. Ensuite, on assiste à

une véritable disparition de la cellulose à cet endroit. Les éléments cryptogamiques sont ici en chapelets plus ou moins longs, incurvés et leur multiplication reste à ce moment encore très peu prononcée. La disparition de la cellulose continue en s'étendant dans le sens longitudinal de la fibre. Ces constatations peuvent être faites jusqu'au dixième jour de la culture. A ce stade, les spores en chapelet commencent à germer et on observe dans les prochains deux ou trois jours une évolution mycélienne des champignons. Ce fait semble attribuable à la formation de produits de désagrégation ou de désassimilation qui arrête pour quelques jours le pouvoir cellulolytique des organismes, malgré que la destruction de la cellulose continue lentement à la suite de la présence d'enzymes cellulolytiques non modifiées probablement. La décomposition s'observe, en effet, facilement sous le microscope. Cet état peut durer de 8 à 24 jours environ, puis les formes mycéliennes régressent de nouveau et on voit apparaître les formes sporulées en plus grande abondance. Le phénomène de dissolution cellulosique reprend à ce stade jusqu'au moment où les vestiges des fibres cellulosiques prennent un aspect jaune-brunâtre et à partir de cette période, la culture reste stable et le champignon se présente toujours sous la forme sporulée. Ces formes de résistance peuvent reprendre leur vitalité encore huit mois plus tard par réensemencement sur milieu neuf.

Nous avons donc pu constater par ensemencement artificiel des fibres de cellulose ou de papier que les champignons isolés des papiers parasités produisaient des lésions identiques dans la culture à celles qu'ils occasionnent dans la nature spontanément. Nous avons par ces expériences observé que les trois champignons, Aspergillus, Fusarium, Cladosporum attaquaient la fibre cellulosique de l'intérieur vers l'extérieur au moyen d'enzymes cellulolytiques endogènes.

Les formes cellulophages de ces champignons sont strictement limitées à la structure morphologique de chaque espèce et celle-ci affecte le stade mycélien.

L'attaque cellulosique chez ces genres de champignons est très tardive et la dégradation ne se poursuit jamais jusqu'à la destruction complète de la cellulose.

La dégradation cellulosique est par contre plus prononcée chez les deux espèces Actinomycès et Monilia, capables de sécréter des enzymes exogènes.

De l'ensemble de ces observations, nous avons essayé de résumer les résultats dans le tableau suivant :

TABLEAU IX

Champignons	Commencement de la dégradation cellulosique	Arrêt de l'action cellulophage
Aspergillus	8e au 12e jour	40e au 45e jour
Fusarium	30e au 36e jour	48e au 50e jour
Cladosporium	5e au 8e jour	40e au 45e jour
Actinomycès	3e au 4e jour	néant le 50e jour
Monilia	3e au 4e jour	néant le 50e jour

La dégradation cellulosique s'effectue pour les trois premières espèces dans un cycle ininterrompu et s'arrête prématurément par la présence des produits inhibiteurs de désassimilation.

Les deux dernières espèces accomplissent l'assimilation cellulosique par des cycles progressifs et leur propriété biogénétique semble pouvoir s'adapter aux conditions chimico-physiques extérieures résultant de l'action assimilatrice des champignons en présence de la cellulose.

Ces conditions peuvent résulter soit d'une hyperacidification du milieu par la décomposition chimique de la cellulose, soit par l'excrétion de produits toxiques de désassimilation, soit encore par l'accumulation des substances résiduelles cellulosiques inattaquables par les organismes et s'accumulant progressivement.

L'action inhibitrice de ces substances a déjà été observée par Henneberg (60) dans ses études au moyen de levure et par Behrens en ce qui concerne la pourriture des fruits. Pour les espèces à cellulase endogène, on constate qu'à la fin de la culture la destruction cellulosique a complètement cessé malgré que le mycélium cryptogamique soit toujours fortement adhérent aux fibres cellulosiques. Les expériences à l'aide de deux autres organismes, où la décomposition de la cellulose continuant malgré l'arrêt provisoire de l'évolution du cham-

pignon prouve qu'il ne s'agit pas d'une destruction des enzymes cellulolytiques par l'apparition de substances toxiques. Il ne peut donc s'agir dans le premier cas que d'enzymes endogènes et ces substances semblent seulement apparaître à la suite d'une irritation directe produite par la cellulose sur le champignon. L'exemple des deux autres organismes démontre qu'il existe aussi dans la nature des ferments cellulolytiques exogènes qui peuvent s'accumuler dans le milieu cellulosique et poursuivre la destruction de ces substances pendant un certain temps.

Il faut d'autre part encore mentionner un phénomène que nous avons eu l'occasion d'observer dans les cultures sur milieu à base de papier. Dans ces substrats, il apparaît à la suite de l'assimilation cellulosique des trois premières espèces étudiées des cristaux minéraux. Ces éléments se présentent sous deux formes, l'une octaétrique régulière, l'autre à cristallisation irrégulière. Nous avons pu observer sous le microscope l'accroissement progressif de ces cristaux.

Il nous a été impossible de caractériser chimiquement la composition et l'identité de ces sels. L'aspect microscopique en octaètre régulier nous a fait penser à la formation des cristaux d'oxalate de calcium. Il faudrait donc admettre que pendant l'assimilation il apparaît un stade de dégradation cellulosique avec formation d'acide oxalique. Il nous a été facile de démontrer qu'il s'agit d'un sel de chaux en ayant recours aux cultures sur cellulose pure non blanchie. En effet, dans ces cultures la formation cristalline fait complètement défaut. Mais, si on ajoute vers le 15^{e} ou 25^{e} jour de culture de l'Aspergillus fumigatus, une goutte d'une solution très diluée de chlorure de calcium au milieu cellulosique pur, on peut suivre sous le microscope dans la période qui suit cette addition, l'apparition des mêmes cristaux. On peut donc se demander d'où vient le calcium dans les cultures au moyen de papiers. Cette question ne semble pas difficile à résoudre, car on sait qu'on blanchit les celluloses brutes ordinairement au moyen de l'hypochlorite de calcium et il est très probable que malgré les lavages successifs au moyen de l'eau on n'arrive pas à enlever toutes les traces de chaux. L'hypochlorite en présence de l'eau doit rester dans la cellulose sous forme de $Ca(OH)_2$ ou de $CaCO_3$.

Il semble donc que la dégradation de la cellulose n'évolue pas de la façon indiquée dans la fermentation cellulosique bactérienne vers la formation d'acides gras, mais il nous paraît que la dégradation doit se faire d'après le schéma suivant :

cellulose — bisaccharose ? — glucose — acide citrique

acide tartrique acide oxalique

anhydride carbonique

Ces produits cristallins n'ont pas pu être décelés dans les cultures au moyen d'Actinomycès ou de Monilia.

Il nous restait à élucider une question : comment se comportent ces champignons en culture artificielle mixte ? A cet effet, nous avons ensemencé des milieux préparés de la même façon que ceux décrits antérieurement, d'une part, avec un mélange préalablement effectué d'Aspergillus fumigatus var. cellulosae, et de Cladosporium herbarum var. cellulosae, de l'autre avec un mélange d'Aspergillus fumigatus et d'Actinomycès cellulosae.

Dans la première expérience, nous avons pu constater que la dégradation cellulosique s'effectuait d'une façon tout à fait analogue à celle que nous avons pu constater au moyen de la culture pure de Cladosporium herbarum cellulosae et les deux organismes n'offraient sous le microscope aucune modification morphologique par comparaison avec leur aspect habituel en culture pure sur cellulose.

L'interprétation de l'examen microscopique était beaucoup plus difficile en ce qui concerne la deuxième expérience. La petitesse des éléments actinomycétiques nous a rendu l'observation détaillée, en présence de l'Aspergillus fumigatus, très ingrate. Pour cette raison, nous avons effectué d'abord une culture pure d'Actinomycès sur nos milieux cellulosiques contenus dans la boîte de Borrel. Le dixième jour après l'ensemencement, nous avons pratiqué une surinfection de cette culture au moyen de prélèvements d'Aspergillus fumigatus. La croissance de celui-ci a débuté dès le lendemain et la culture de l'Aspergillus présente une luxuriance beaucoup plus grande que sur les milieux témoins purs. La dégradation de la cellulose au niveau des fibres cellulosiques infectées seulement avec l'Actinomycès cessait cependant

déjà deux ou trois jours après cette surinfection aspergilienne. Par la suite, la culture de l'Actinomycès cellulosae disparaissait complètement et des prélèvements effectués par nous entre le 18e et 20e jour de culture ne permettaient plus d'obtenir la poussée de l'Actinomycès. Il semble donc que les deux organismes mis en présence de la cellulose sont des antagonistes et seul l'Aspergillus semble profiter de cette association fugace.

Une troisième série d'expériences que nous avons effectué par la suite au moyen d'un mélange d'Actinomycès et de Monilia, nous a montré que ces deux organismes étaient des symbiontes parfaits et qu'ils étaient capables de vivre et d'assimiler sur la cellulose d'une façon au moins aussi luxuriante que si chacun se trouvait en état de pureté sur ce milieu.

Nous croyons être en droit de conclure que l'assimilation de la cellulose doit être différente chez les organismes à ferments endogènes et à ferments exogènes et les produits de désassimilation des uns doivent entraver la croissance des autres.

Ceci confirme encore le résultat que nous avons pu établir au moyen de cultures âgées sur papier et ayant été exposées temporairement à l'air libre.

Chapitre III

Technique et méthode employées pour les recherches de l'assimilation de la cellulose

I. Parmi les procédés de dosage de cellulose dans les milieux de culture, on distingue généralement deux groupes : les premiers donnent la teneur d'une substance en cellulose brute, les autres beaucoup plus précis permettent le dosage de la cellulose pure.

Pour ce qui est du dosage de la cellulose brute, la méthode la plus ancienne est celle de Weende (61) qui est basée sur l'action de l'acide sulfurique très dilué et de la lessive de potassium dilué.

Nombre d'auteurs, parmi lesquels nous citons Hellriegel et Lukanus (62), von Kniriem W. (63), Dmoschowsky et Tollens B., etc. (64) ont donné des modifications intéressantes de ce procédé. Parmi les autres dosages de la cellulose brute, nous signalons celui de Kœnig (65) utilisant le contact avec un mélange d'acide sulfurique et de glycérine à $+133^{\circ}$. Les méthodes de dosage de la cellulose pure utilisent le chlore, l'acide chlorhydrique, chlorate de potassium et enfin de la lessive de soude diluée. Simon et Lohrisch (66) ont donné une méthode basée sur le fait que les substances inconstantes sont décomposées par les alcalis en fusion. La cellulose est dissoute, mais pas détruite. Nous pourrions citer encore la méthode de Kœnig qui s'appuie sur l'oxydation de la lignine par l'eau oxygénée et l'ammoniaque et le traitement du résidu par la liqueur de Schweitzer.

II. En ce qui concerne le dosage de la cellulose dégradée par les microorganismes, nous avons employé deux méthodes : celles données par Dmoschowsky et Tollens. Ces auteurs traitent la cellulose au moyen de l'acide sulfurique à 1,25 %

puis par de la lessive de potassium à 1,25 %. Les deux traitements ont pour but de dissoudre tous les produits de dégradation en respectant la cellulose. Le résidu de ces opérations est disposé sur un filtre, traité par l'acide azotique (D=1,15) de manière à recouvrir entièrement la cellulose. On porte sur le bain-marie et on chauffe à la température de +80° durant une heure. La substance a jauni; on la dispose dans un filtre de Goodge, on filtre à la trompe à vide, on ajoute sur le dépôt une certaine quantité d'eau ; on chauffe et on arrête ce chauffage quand la coloration jaune a complètement disparu. On filtre, on traite le dépôt par l'alcool, puis par l'éther. On sèche à la température de +110° jusqu'à poids constant, on pèse, on calcine. La différence entre la première pesée et le poids des cendres donne le poids de cellulose pure, dépourvue de cendre. Enfin on multiplie le résultat obtenu par le coefficient 1,1.

Dans toutes nos expériences nous avons fait usage de la cellulose pure Poulenc, lavée à l'alcool et à l'éther et desséchée à l'étuve avant la pesée. Nous avons disposé dans nos milieux un poids connu de cellulose pure, le plus souvent 1 gramme.

La cellulose a été toujours coupée en bandes rectangulaires qu'on enroulait pour former un cylindre placé dans une boîte ronde de Borrel. Afin d'éviter toute cause d'erreur, nous avons uniquement ajouté dans le tube de l'eau distillée. Le tout a été stérilisé à l'autoclave à + 105° pendant 30 minutes. L'ensemencement était toujours effectué par plusieurs stries au moyen de l'œse du fil de platine le long des parois du cylindre cellulosique. Il faut encore mentionner que nous avons toujours été obligé de dilacérer mécaniquement avant les opérations chimiques la culture mycélienne. Car nous avons constaté que les filaments retenaient une petite quantité de cellulose ou de ses sous-produits pendant le traitement au moyen de l'acide sulfurique et de la lessive de potasse qui aurait pu ainsi s'échapper au dosage.

Des expériences préliminaires au moyen de papiers cellulosiques non ensemencés nous ont prouvé qu'il n'y avait par ces manipulations aucune perte en substance cellulosique. L'examen microscopique des résidus après les traitements acides et alcalins, nous a d'autre part montré que les fila-

ments mycéliens étaient à la suite de notre dilacération complètement dissociés et dépourvus des débris de fibres cellulosiques.

En plus, nous avons contrôlé l'exactitude de notre technique par des expériences répétées au moyen de cellulose pesée et soumise aux mêmes conditions, mais restée à l'état de stérilité, car nous n'avons pas effectué l'ensemencement de ces milieux témoins. Les pesées de ces bandes de cellulose, soumises aux mêmes traitements chimiques après des périodes différentes, ont toujours fourni un poids correspondant sensiblement à celui initialement mis en œuvre.

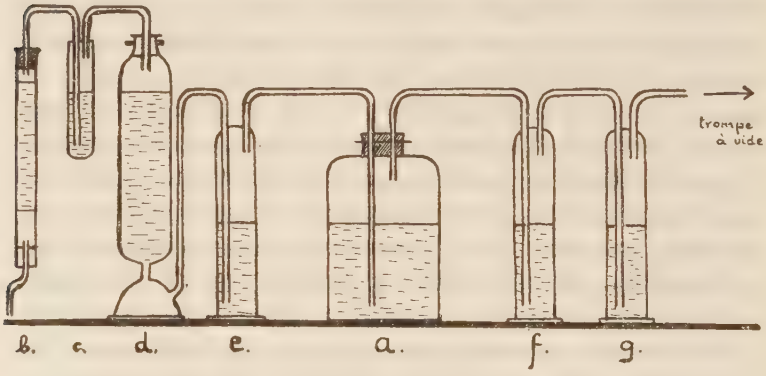
Une seconde méthode pour contrôler quantitativement la dégradation de la cellulose par les organismes en étude, nous a semblé très commode : cette technique a déjà été employée par Drechsel. L'inconvénient de cette méthode réside dans le fait que son emploi est limité seulement au microorganisme attaquant la cellulose avec production de substances de dégradation à l'état gazeux.

Hoppe-Seyler ainsi qu'Omelianski avaient déjà constaté que la dégradation cellulosique fournissait des gaz qu'ils ont captés et caractérisés. Si on veut bien admettre que la quantité de gaz développée est dans un rapport déterminé avec le procédé de décomposition cellulosique, on doit pouvoir recueillir et déterminer quantitativement l'anhydride carbonique, puisqu'il est normal que ce gaz soit celui qui se forme en majeure partie comme dans les procédés normaux de fermentation. L'auteur dit que le procédé ne peut probablement pas éliminer toutes les causes d'erreurs, mais en tout cas, il apparaît comme le seul procédé, capable d'apporter une certaine lumière sur cette intéressante question.

Pour réaliser la bonne marche de cette technique, il est nécessaire que tous les appareils et les réactifs utilisés pour la production de l'anhydride carbonique soient d'une propreté et d'une pureté rigoureuses. La stérilité doit être assurée et se maintenir pendant toute la durée de l'expérience. Un autre facteur très important, introduit par Drechsel, est l'emploi de l'eau distillée seulement pour humecter les papiers, car l'addition de toute autre substance nutritive, sels minéraux ou organiques, pourrait par leur décomposition fausser les résultats. Nous avons donc utilisé cette technique

avec fruit, tel que nos résultats le prouvent, pour examiner l'action cellulolytique de nos champignons produisant une fermentation gazeuse par l'assimilation et la dégradation des hydrates de carbone. Le mode opératoire a été le suivant : une quantité exactement pesée de cellulose est introduite dans un grand vase de verre *a* (voir figure). Cette cellulose est ensuite stérilisée à l'autoclave à + 105°, puis on l'ensemence avec les germes en étude. On relie ensuite le vase, comme nous allons le voir, à une trompe à vide pour soumettre la culture cellulosique à un courant d'air aspirant. Cet air a été, au préalable, stérilisé par passage à travers un long tube *b* rempli de coton. Cet air est desséché et privé de toute substance organique par le passage à travers un flacon laveur rempli d'acide sulfurique concentré (fig. *c*), puis débarrassé de l'anhydride carbonique au moyen du passage à travers un autre flacon laveur contenant de chaux sodée (fig. *d*). Pour augmenter encore la rigueur de l'expérience, on insère encore dans le circuit un troisième flacon laveur (fig. *e*) contenant une solution diluée d'eau de baryte pour contrôler si l'anhydride carbonique a été complètement absorbé et pour humidifier un peu l'air, afin d'éviter la dessiccation de la cellulose.

L'air arrive ainsi dans le vase renfermant la cellulose ensemencée. Après avoir traversé la masse fibreuse humide,



il est amené successivement à travers deux flacons contenant de l'eau de baryte. L'anhydride carbonique, résultant de la décomposition de la cellulose, provoque alors la précipitation de carbonate de baryte, dont la teneur peut être déterminée

à des intervalles divers suivant les nécessités expérimentales. Du poids du précipité de carbonate de baryte, on arrive suivant l'exemple que nous citons ci-joint, à déduire facilement celui de l'anhydride carbonique. La proportion en gaz carbonique dégagé est directement proportionnelle à la quantité de cellulose détruite par le champignon en étude.

Nous donnons maintenant le mode opératoire pour transformer le carbonate et l'hydroxyde de baryte en anhydride carbonique et pour calculer ces différentes valeurs chimiques.

Le précipité qui se forme dans l'eau est constitué par un mélange de carbonate de baryte et d'hydrate et peut être exprimé par la formule :

I. $BaCO^3+Ba(OH)^2.H^2O$

Normalement le $Ba(OH)^2$ se précipite avec 8 H^2O, mais si on sèche à l'étuve, le précipité garde seulement une molécule d'H^2O. On incinère ensuite le filtre et son contenu en chauffant au creuset jusqu'au rouge sombre. Par cette opération tout le dépôt se transforme en :

II. $BaCO^3+BaO$.

Une décomposition complète du carbonate ne s'effectue pas encore à cette température, car le dégagement du CO^2 ne se produit qu'à 1450°. On ne risque pas la formation du bioxyde de baryum $(BaO)^2$ dans ces conditions, car celle-ci se réalise uniquement en faisant agir sur de la baryte, chauffée au rouge sombre, un courant d'air dépouillé de gaz carbonique.

On a donc 1) le poids de Ba CO^3+ Ba $(OH)^2$. H^2O
et 2) le poids de Ba CO^3+ BaO.

La différence des poids de ces deux facteurs est : 2 H^2O.

Le poids moléculaire de Ba $(OH)^2.H^2O$ est de 189.40 gr. Les deux molécules d'H^2O y contenues représentent 36 gr. La valeur des H^2O=n constatée pondéralement permet donc de calculer la teneur en hydrate de baryum par l'équation suivante :

III. $$\frac{189.40 \times n}{36} = \text{Ba } (OH)^2.\ H^2O.$$

(I) La différence entre la quantité de Ba $CO^3+Ba(OH)^2$. H^2O et la quantité de Ba $(OH)^2.H^2O$ (III) donne la valeur du

IV. Ba CO^3
contenu dans le précipité.

V. Il ne faut cependant pas négliger le fait que le carbonate de baryum est un peu soluble dans l'eau chargée de gaz carbonique (une partie de Ba CO^3 se dissout dans 1200 parties d'eau). Les eaux de lavage doivent donc aussi chaque fois être recueillies quantitativement et leur teneur en Ba CO^3 doit être déterminée. Le poids de celui-ci (V) est à ajouter au Ba CO^3 constaté dans le précipité (IV).

La valeur (IV) de Ba CO^3 plus la valeur (V) de Ba CO^3 donne la teneur en Ba CO^3 proprement dite, qui se forme au cours de l'expérience. (La teneur soit = v). La quantité de CO^2 dégagée (soit = x) par la décomposition de la cellulose se calcule d'après l'équation suivante :

Le poids moléculaire de Ba CO^3 = 197,4 gr.
Le poids moléculaire de CO^2 = 44 gr.

$$x = \frac{44 \times v}{197,4}$$

On voit donc qu'on peut facilement calculer la quantité d'anhydride carbonique formé par l'action des microorganismes attaquant la cellulose avec production gazeuse, en déterminant la totalité du carbonate de baryte. Cette technique permet de doser les quantités totales d'acide carbonique formé et les quantités quotidiennement développées pendant une période correspondante considérée.

Après avoir ainsi décrit les techniques que nous avons adoptées pour contrôler quantitativement l'action cellulolytique de nos microorganismes et pour suivre les processus biologiques résultant de cette assimilation, nous exposons dans le prochain chapitre les résultats que nous avons pu constater.

Chapitre IV

Résultats expérimentaux

Nous avons dans le chapitre précédent exposé les techniques employées au cours de ces travaux pour suivre et déterminer l'action cellulolytique de nos organismes. Dans nos expériences préliminaires ayant trait aux propriétés biochimiques de ces champignons, nous avons pu mettre en évidence que ceux-ci peuvent être classés en deux groupes en ce qui concerne l'assimilation des hydrates de carbone. Dans un premier groupe, nous rangeons le Cladosporium, le Fusarium et l'Aspergillus, qui assimilent les matières ternaires sans dégagement appréciable de gaz carbonique, tandis que Monilia et Actinomycès sont à cataloguer dans un deuxième groupe, contenant les parasites cellulophages avec production gazeuse.

Expériences au moyen de Cladosporium, Aspergillus et Fusarium.

Pour les champignons assimilant la cellulose sans dégagement gazeux, nous avons employé la première méthode analytique décrite dans le chapitre précédent.

Dans ce cas les dosages ont été effectués après 60, 90, 120 et 150 jours de cultures. On a employé tout d'abord un milieu de cellulose pure contenant du nitrate de potasse (0,50 ‰) pour fournir à nos microorganismes un aliment azoté. D'autre part, on a fait usage de milieu contenant à la place de ce sel minéral des peptones (5 ‰). Enfin pour nous rapprocher autant que possible des conditions naturelles que nos champignons rencontrent en végétant sur les papiers industriels, nous avons remplacé ces substances azotées par la gélatine pure (10 %) ou additionnée de glucose à 2 %.

Ces techniques ont été utilisées pour le Cladosporium herbarum var. cellulosae, pour le Fusarium coeruleum et pour l'Aspergillus fumigatus var. cellulosae.

Le milieu de culture employé avait toujours la composition suivante :

Cellulose pure	10	gr.
Chlorure de sodium	1	gr.
Phosphate monopotassique	1	gr.
Sulfate de Magnésie	0,5	gr.
Eau distillée	1000	cc.

A ce milieu de base, nous avons ajouté suivant l'expérience une de ces substances azotées prémentionnées.

Chaque expérience était effectuée au moyen de 101 gr. de milieu, contenant exactement 1 gr. de cellulose pure préalablement lavée, sechée et stérilisée. Les cultures ont été toujours placées à +18°.

Nous exprimons dans les tableaux suivants les résultats de nos expériences. Nous avons effectué chaque fois trois essais identiques et nous notons les valeurs trouvées pour la cellulose restante, déterminées pondéralement après les périodes de culture indiquées.

Expériences au moyen de Cladosporium herbarum.

TABLEAU X

Milieu additionné de Nitrate de Potassium

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,793	0,716	0,802	77,0
90 »	0,704	0,538	0,739	66,0
120 »	0,632	0,501	0,641	59,1
150 »	0,473	0,413	0,514	46,6
200 »	0,467	0,414	0,512	46,4

TABLEAU XI

Milieu additionné de Peptones

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,942	0,953	0,919	93,8
90 »	0,905	0,900	0,866	89,0
120 »	0,883	0,836	0,806	84,1
150 »	0,767	0,715	0,719	73,3
200 »	0,648	0,621	0,604	62,4

TABLEAU XII

Milieu additionné de gélatine pure

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,762	0,734	0,753	74,9
90 »	0,752	0,716	0,709	71,6
120 »	0,704	0,654	0,644	66,7
150 »	0,598	0,583	0,577	58,6
200 »	0,504	0,479	0,510	49,8

TABLEAU XIII

Milieu additionné de gélatine glucosée à 2 %

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,956	0,964	0,924	94,8
90 »	0,915	0,917	0,909	91,3
120 »	0,886	0,878	0,866	87,6
150 »	0,856	0,843	0,831	84,3
200 »	0,798	0,802	0,792	80,1

En nous fondant sur ces expériences, nous nous croyons en droit de tirer les conclusions suivantes :

Le Cladosporium herbarum, var. cellulosae, assimile la cellulose le plus intensément dans un milieu ne contenant aucun autre hydrate de carbone et renfermant des matières azotées à l'état de sel minéral sous forme d'ion acide. La quantité de cellulose dégradée varie en raison inverse de la quantité de substance azotée présente dans le milieu.

La présence d'azote organique sous forme de peptones diminue sensiblement le pouvoir cellulolytique du Cladosporium herbarum, l'addition de gélatine pure au milieu cellulosique ne semble pas influencer sensiblement le pouvoir cellulolytique de cet organisme.

La présence de glucose dans le milieu gélatiné exerce une action inhibitrice nette sur le pouvoir cellulolytique du Cladosporium herbarum.

L'intensité de la destruction de la cellulose par le Cladosporium herbarum dépend de la teneur en substances nutritives autres du substrat. Cette destruction s'arrête prématurément dans les milieux pauvres et l'inhibition du pouvoir cellulolytique semble se produire par l'accumulation dans le milieu de substances de dégradation toxiques résultant de la décomposition de la cellulose même.

Les produits de désassimilation provenant d'autres substances nutritives ne paraissent pas exercer une influence d'activation ou d'inhibition sur le processus cellulolytique.

La disparition de la cellulose se manifeste très rapidement sur milieu à base de nitrate et le processus cellulolytique est régulier et progressif jusqu'au 150^{e} jour environ de la culture. A partir de cette période, on note un arrêt brusque.

L'attaque cellulolytique est retardée sur milieu à base de peptones, mais ici la courbe qui exprime les valeurs de la cellulose restante évolue aussi sensiblement suivant une ligne droite. La destruction de la cellulose n'a pas encore atteint un arrêt le 200^{e} jour de culture. Les produits de désagrégation des substances nutritives autres que la cellulose n'exercent donc aucune influence sur la lyse cellulosique.

Les mêmes faits se manifestent dans les expériences décrites dans les Tableaux 12 et 13.

Expériences au moyen de Fusarium coeruleum.

TABLEAU XIV

Milieu additionné de Nitrate de Potasse

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,882	0,905	0,856	88,1
90 »	0,773	0,782	0,797	78,4
120 »	0,688	0,700	0,726	70,4
150 »	0,632	0,656	0,687	65,8
200 »	0,604	0,609	0,625	61,3

TABLEAU XV

Milieu additionné de peptones

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,856	0,818	0,785	81,9
90 »	0,707	0,733	0,705	71,4
120 »	0,593	0,657	0,586	61,2
150 »	0,370	0,425	0,385	39,3
200 »	0,362	0,422	0,385	38,9

TABLEAU XVI

Milieu additionné de gélatine pure

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,759	0,842	0,723	77,4
90 »	0,714	0,743	0,634	69,7
120 »	0,537	0,600	0,545	56,1
150 »	0,355	0,326	0,474	38,5
200 »	0,348	0,325	0,464	37,9

TABLEAU XVII

Milieu additionné de gélatine glucosée à 2 %

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,835	0,790	0,747	79,1
90 »	0,692	0,656	0,615	65,4
120 »	0,587	0,512	0,543	54,7
150 »	0,452	0,387	0,395	41,1
200 »	0,441	0,387	0,392	40,7

Le Fusarium coeruleum a donc un pouvoir cellulolytique très prononcé dans un milieu contenant comme substance quaternaire soit des peptones, soit de la gélatine. La présence d'un sucre, sous forme de glucose dans notre expérience, n'exerce aucune action inhibitrice, ni stimulatrice sur le pouvoir cellulophage de cet organisme.

Le milieu nitraté, contenant l'azote sous forme de ion acide minéral, est très défavorable pour la production d'enzymes cellulolytiques.

De l'ensemble de ces constatations, il semble que le Fusarium coeruleum décompose la cellulose d'autant plus activement que le substrat de culture est plus riche en matières ternaires et quaternaires. Ces substances favorisent la production d'un mycélium très luxuriant et la dégradation de la cellulose semble donc, comme nous l'avons déjà constaté antérieurement, en relation étroite avec l'abondance des filaments mycéliens. La dégradation de la cellulose par le Fusarium coeruleum est aussi incomplète et s'arrête après une période de culture de 150 jours environ sur tous les milieux employés. Ce phénomène semble aussi ici indépendant de l'accumulation des produits de désassimilation d'origine non cellulosique.

La disparition de la cellulose s'effectue également suivant une courbe régulière et progressive pendant la période de 150 jours environ. On constate alors un arrêt définitif brusque.

Afin de compléter autant que possible nos expériences nous avons aussi entrepris une petite série de recherches

au moyen de l'Aspergillus fumigatus, var. cellulosae. Nous avons cependant limité ces expériences aux cultures se rapprochant le plus des conditions naturelles du parasitisme des papiers.

Expériences au moyen de l'Aspergillus fumigatus, var. cellulosae.

TABLEAU XVIII

Milieu additionné de gélatine pure

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,824	0,868	0,868	85,0
90 »	0,678	0,744	0,759	72,7
120 »	0,652	0,725	0,728	70,1
150 »	0,609	0,698	0,703	67,0
200 »	0,597	0,697	0,698	66,4

TABLEAU XIX

Milieu additionné de gélatine glucosée à 2 %

Culture après	Cellulose restante			% moyen en cellulose restante
	Expérience I	II	III	
60 jours	0,912	0,946	0,902	92,0
90 »	0,874	0,915	0,878	88,9
120 »	0,856	0,898	0,847	86,7
150 »	0,828	0,877	0,827	84,4
200 »	0,825	0,869	0,826	84,0

L'Aspergillus fumigatus, var. cellulosae se comporte donc dans ces expériences sensiblement comme le Cladosporium herbarum. L'assimilation de la cellulose en présence de gélatine pure seule n'a subi aucune modification sensible, tandis que la présence de glucose dans le milieu gélatiné a exercé une action inhibitrice nette sur le pouvoir cellulolytique de notre organisme.

Dans le tableau suivant nous exprimons les moyennes de ces expériences par rapport à chaque milieu. Ces moyennes

représentent la valeur de la cellulose restante en pour cent. La comparaison entre les différentes valeurs doit nous permettre une interprétation plus facile de l'action cellulolytique de ces champignons et l'influence des différents produits nutritifs sur leur pouvoir cellulophage.

TABLEAU XX

Milieux: Cellulose additionnée de	Cellulose restante en % après une culture de:														
	60 jours			90 jours			120 jours			150 jours			200 jours		
	Clad.	Fusar.	Asperg.	Clad.	Fusar.	Asperg.	Clad.	Fusar.	Asperg.	Clad.	Fusar.	Asperg.	Clad.	Fusar.	Asperg.
Nitrate de potasse . .	77.0	88.1	—	66 0	78.4	—	59.1	70.4	—	46 6	65.8	—	46.4	61.3	—
Peptones . .	93.8	81 9	—	89.0	71.4	—	84.1	61.2	—	73.3	39 3	—	62 4	38.9	—
Gélatine seule	74.9	77.4	85.0	71.6	69.7	72.7	66.7	56.1	70.1	58 6	38 5	67.0	49.8	37.9	66.4
Gélatine glucosée .	94.8	79.1	92.0	91.3	65 4	88.9	87.6	54.7	86.7	84 3	41 1	84.4	80.1	40.7	84.0

Nous pouvons donc conclure :

1° Le Cladosporium et l'Aspergillus assimilent la cellulose le plus intensément dans un milieu ne contenant ni hydrate de carbone, ni molécule azotée organique. La présence d'azote à l'état du ion acide sous forme de sel minéral favorise fortement la dégradation cellulosique.

Le Fusarium par contre présente dans ces conditions un pouvoir cellulolytique faible.

2° La présence d'azote organique sous forme de peptones diminue sensiblement le pouvoir cellulophage du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais augmente celui du Fusarium.

3° La présence d'azote organique sous forme de gélatine pure n'influence pas sensiblement le pouvoir cellulolytique du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais augmente l'assimilation cellulosique du Fusarium.

4° La présence de sucre (glucose) dans le milieu gélatiné exerce une action inhibitrice sur le pouvoir cellulolytique du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais une action favorisante sur la destruction cellulosique par le Fusarium.

5° Sur tous les milieux azotés la décomposition de la cellulose par les trois organismes se manifeste suivant deux cycles :

Le Cladosporium et l'Aspergillus attaquent cette matière hydrocarbonée très rapidement, le maximum de la dégradation est atteint le plus souvent le 60e jour de culture. La cellulose disparue au cours de cette période représente plus de 50 % de la quantité totale de la cellulose assimilée en 200 jours. La courbe figurant l'assimilation cellulosique par le Fusarium évolu par contre dans les premiers 120 jours de culture suivant une ascension lente et régulière, pour atteindre entre le 120e et le 150e jour un maximum, qui représente 30 à 40 % du total de la cellulose disparue au cours de l'expérience.

6° La dégradation de la cellulose chez les trois organismes est incomplète et s'arrête prématurément. L'action cellulolytique se manifeste suivant un cycle homogène.

7° Ces résultats confirment les observations que nous avons faites au cours de nos recherches microscopiques sur la production expérimentale de maladies cryptogamiques du papier.

Cladosporium et Aspergillus deviennent cellulophage par la formation d'éléments morphologiques de souffrance.

Le pouvoir cellulolytique est très limité et passager en présence de substances nutritives telles que gélatine et sucre se trouvant généralement dans les papiers.

Le Fusarium attaquant la cellulose au moyen de filaments mycéliens stériles, morphologiquement normaux, est un vrai parasite du papier. Son pouvoir cellulolytique est d'autant plus prononcé, que son appareil mycélien est plus développé. La production de cellulase est directement proportionnelle à la présence de produits nutritifs protéidiques et hydrocarbonés dans le milieu de culture.

8° La décomposition de la cellulose est produite par les trois organismes au moyen d'enzymes endogènes. Leur pouvoir cellulolytique s'arrête au moment de l'inhibition de la croissance et du développement des champignons.

Expériences au moyen de l'Actinomycès et du Monilia.

Le deuxième groupe de champignons cellulophages que nous avons isolé renferme les deux espèces : Actinomycès cellulosae et Monilia cellulosophaga. Ces deux organismes

attaquent la cellulose avec production de gaz carbonique. Pour étudier le pouvoir cellulolytique de ces parasites du papier, nous avons donc employé la méthode de Drechsel que nous avons décrite antérieurement.

Nous donnons ci-dessous comme exemple l'ensemble d'une de nos expériences avec tous les détails pour expliquer les différentes manipulations, les calculs des résultats et leur interprétation.

L'appareil de Drechsel ayant été monté, le flacon contenant la cellulose pure a été ensemencé au moyen de l'Actinomycès cellulosae. L'expérience ici relatée a duré 120 jours. Après ce temps, nous avons filtré quantitativement les liquides barytés à travers un filtre double. Le filtre avec son contenu est séché jusqu'à poids constant.

Le filtre + le précipité sec = 0,8508 gr. Le poids du filtre seul = 0,3872 gr. Le précipité constitué par un mélange de carbonate de baryte et d'hydrate de baryte est :

I. $0{,}8508 - 0{,}3872 = 0{,}4636$ gr.

La transformation du $Ba(OH)^2 . H^2O$ en $BaCO^3 + Ba\,O$ est effectuée dans un creuset.

Poids du creuset + cendre		= 9,9807 gr.
Poids du creuset		= 9,5376 gr.
Poids des cendres	9,9807 — 9,5376	= 0,4431 gr.
Poids des cendres de notre filtre		= 0,0035 gr.

II. Poids des cendres du mélange $BaCO^3 + Ba\,O$:

$$0{,}4431 - 0{,}0035 = 0{,}4396 \text{ gr.}$$

Le poids de l'eau de cristallisation dans le précipité de $Ba\,CO^3 + Ba(OH).^2 . H^2O$ est donc :

III. $2\,H^2O = 0{,}4636 - 0{,}4396 = 0{,}024$ gr.

La teneur en hydrate de baryte de notre précipité est par conséquent :

IV. $$\frac{189{,}40 \times 0{,}024}{36} = 0{,}1260 \text{ gr.}$$

La teneur en carbonate de baryte des cendres est :

$[Ba\,CO^3 + Ba(OH)^2 . H^2O] - Ba(OH)^2 . H^2O = BaCO^3$

V. $0{,}4636 - 0{,}1260 = 0{,}3376$ gr.

Dans les eaux de lavage = 250 cc^3 nous avons en plus trouvé une quantité de $Ba\,CO^3$:

VI. $$Ba\,CO^3 = 0{,}0294 \text{ gr.}$$

La totalité de $Ba\,CO^3$ formé au cours de l'expérience est donc :

VII. $$0{,}3376 + 0{,}0294 = 0{,}3670 \text{ gr.}$$

La quantité de gaz carbonique formé au cours de l'expérience se calcule d'après l'équation :

VIII. $$CO^2 = \frac{44 \times 0{,}3670}{197{,}4} = 0{,}0818 \text{ gr.}$$

En appliquant les mêmes principes, nous avons pu établir les résultats expérimentaux que nous donnons dans le tableau 21.

TABLEAU XXI.

	Précipité $Ba\,CO^3 + Ba(OH)^2\,H^2O$	Cendres $Ba\,CO^3 + Ba\,O$	Eaux de Cristal. $2\,H^2O$	$Ba(OH)^2\,H^2O$	$Ba\,CO^3$ des cendres	$Ba\,CO^3$ des eaux de lavage	$Ba\,CO^3$ pr. dit.	CO^2
				Actinomycès				
8 jours ..	0.2378	0.1948	0.0430	0.2262	0.0116	0.0844	0.0960	0.0214
10 jours ..	0.2419	0.2109	0.0310	0.1633	0.0786	0.0219	0.1005	0.0224
20 jours ..	0.2928	0.2539	0.0389	0.2045	0.0883	0.0256	0.1139	0.0254
30 jours ..	0.2429	0.2110	0.0319	0.1681	0.0748	0.0271	0.1019	0.0227
50 jours ..	0.4879	0.4648	0.0231	0.1217	0.3662	0.0264	0.3926	0.0875
70 jours ..	0.1465	0.1278	0.0187	0.0982	0.0483	0.0203	0.0686	0.0153
80 jours ..	0.1032	0.0843	0.0189	0.0995	0.0637	0.0201	0.0238	0.0053
90 jours ..	0.2260	0.1964	0.0296	0.1557	0.0703	0.0230	0.0933	0.0208
120 jours ..	0.4636	0.4396	0.0240	0.1260	0.3376	0.0294	0.3670	0.0818
				Monilia				
8 jours ..	0.1186	0.1061	0.0125	0.0658	0.0528	0.0212	0.0740	0.0165
10 jours ..	0.1361	0.1220	0.0141	0.0743	0.0618	0.0221	0.0839	0.0187
20 jours ..	0.2115	0.1844	0.0271	0.1427	0.0688	0.0218	0.0906	0.0202
30 jours ..	0.2337	0.2302	0.0305	0.1605	0.0732	0.0224	0.0956	0.0213
50 jours ..	0.3752	0.3453	0.0299	0.1572	0.2180	0.0274	0.2454	0.0547
70 jours ..	0.0776	0.0654	0.0122	0.0640	0.0136	0.0201	0.0337	0.0075
80 jours ..	0.0683	0.0566	0.0117	0.0615	0.0068	0.0098	0.0166	0.0037
90 jours ..	0.1247	0.1123	0.0124	0.0650	0.0597	0.0206	0.0803	0.0179
120 jours ..	0.3425	0.3148	0.0277	0.1457	0.1968	0.0257	0.2225	0.0496

On voit donc que cette méthode peut être employée avec fruit pour suivre et pour doser la dégradation de la cellulose par des microorganismes qui assimilent cet hydrate de carbone avec production finale de gaz carbonique.

Nous avons exprimé dans le tableau XXII la quantité journalière de gaz carbonique produite par nos champignons en nous basant sur les valeurs trouvées dans l'expérience précédente :

TABLEAU XXII

Champignons	Quantité journalière de gaz produite pendant les premiers jours de culture								
	10	20	30	50	70	80	90	120	150
Actinomycès	0,0022	0,0024	0,0024	0,0032	0,0025	0,0022	0,0022	0,0022	0,0029
Monilia	0,0019	0,0019	0,0020	0,0023	0,0017	0,0016	0,0016	0,0016	0,0022

Nous arrivons donc aux conclusions suivantes :

I. Le pouvoir cellulolytique de l'Actinomycès est plus prononcé que celui du Monilia, mais ces deux organismes sont des destructeurs cellulosiques très marqués.

II. L'action cellulolytique des deux organismes se manifeste suivant un cycle rythmique régulier et progressivement continu.

III. On constate des maxima de la courbe exprimant l'assimilation cellulosique vers le 50e et le 150e jour de culture pour les deux organismes.

IV. On ne constate après 150 jours d'expérimentation aucun signe d'arrêt du pouvoir cellulophage.

V. Ces résultats sont en accord avec nos observations microscopiques au sujet de la reproduction expérimentale des maladies cryptogamiques du papier, c.-à-d. que les deux parasites Actinomycès et Monilia attaquant la cellulose par des éléments sporulés, semblent adapter leur propriété biogénétique aux conditions physico-chimiques externes, résultant de l'action assimilatrice cellulosique par des exoferments.

Chapitre V

Recherches des produits intermédiaires de l'assimilation cellulosique

Il nous reste à dire quelques mots sur nos essais très sommaires de caractériser des produits intermédiaires de la désassimilation cellulosique, lors des expériences antérieures au moyen de l'Actinomycès et du Monilia.

Après 150 jours de culture, nous avons arrêté l'expérimentation, comme nous l'avons déjà vu. La cellulose restante dans le flacon spécial de l'appareil fut lavée avec toutes les précautions, pour éviter des pertes, puis desséchée et pesée. Les poids trouvés étaient toujours inférieurs aux poids initiaux, malgré la présence probable d'éléments organiques cryptogamiques. Le liquide aqueux de lavage présentait toujours une teinte jaunâtre. La réaction était toujours acide. La filtration était très lente et le liquide moussait toujours facilement par agitation. Par addition d'alcool ou d'éther, on obtient un précipité faible.

La recherche de sucres réducteurs au moyen de réactifs de Fehling et de Nylander a toujours donné un résultat négatif.

Une partie des eaux de lavage a été concentrée et traitée au moyen de petites quantités connues de solution de chlorure de calcium. En présence d'acide oxalique ou d'autres acides, dont les sels de calcium sont insolubles dans l'eau, on devait obtenir par ce réactif un précipité. Nous avons effectivement obtenu un léger précipité, mais il nous a été impossible d'obtenir une cristallisation de celui-ci. La caractérisation microanalytique a été aussi impossible par suite de la quantité minime du produit récolté et par la présence d'impuretés. En effet, le dépôt obtenu avait toujours une couleur brun sale, due à la présence de substances organiques.

Le filtrat recueilli après la réaction calcique était toujours jaune foncé. Après évaporation à siccité, on obtient un résidu brun foncé, mou, à odeur douceâtre, rappelant un peu la vanille. Cet extrait se carbonise au chauffage. Il est soluble dans l'eau, insoluble dans l'alcool à + 95° et dans l'éther sulfurique. Sa solution aqueuse ne précipite guère par addition d'acides, d'alcool ou d'éther en proportion faible.

Nous avons recherché la présence de tannin à l'aide d'une solution diluée de perchlorure de fer. D'autre part, nous avons essayé de mettre en évidence la lignine à l'aide du réactif Phloroglucine /Acide chlorhydrique. Mais toutes ces recherches ne nous ont pas permis d'obtenir un résultat positif.

Nous croyons donc, comme Drechsel et Fuchs l'admettent, que les substances de désassimilation que nous avons pu déceler, sont principalement formées de produits de transformation de la lignine à caractère humique, dont il est impossible jusqu'à présent d'effectuer des réactions chimiques nettement déterminées. L'importance des travaux très intéressants sur la caractérisation des produits intermédiaires de la dégradation cellulosique par les champignons tels que R. Sartory les a effectués à l'aide des techniques de Van Iterson et de Pringsheim, ne nous a pas échappé; mais des raisons économiques nous ont forcé de limiter l'exposé de ce mémoire. Nous nous proposons de continuer nos recherches à ce sujet et d'y revenir dans une publication ultérieure, afin d'essayer de mettre en évidence les produits de dégradation de la cellulose tels que cellobiose, maltose, glucose.

Conclusions générales

Nous avons pu isoler en employant deux méthodes, l'une utilisant les tubes de Roux, l'autre les boîtes de Borrel rondes, un grand nombre de microorganismes charticolles.

En effectuant sur le papier parasité même, ou sur de la cellulose placée dans des boîtes de Borrel ou disposée en microculture en boîte de Borrel dite pour culture de tissu, des recherches microscopiques d'un côté, des recherches macroscopiques de l'autre en ayant recours à des examens chimiques, nous avons pu caractériser cinq champignons à pouvoir cellulolytique très prononcé.

Nous avons réensemencé ces cinq champignons successivement pour obtenir des cultures à propriétés fixées et nous avons ensuite étudié les propriétés morphologiques et biologiques de ces organismes, que nous avons ainsi pu déterminer exactement.

Il nous a été donné de démontrer que l'attaque des champignons cellulophages sur les fibres cellulosiques peut être constatée microscopiquement.

La destruction de la cellulose peut s'accomplir suivant deux procédés, soit par dissolution des parois de fibres, soit par une fluidification du contenu interne de celles-ci. Ce fait est en rapport avec les propriétés diastasogènes des champignons. Il existe des champignons produisant des enzymes cellulolytiques endogènes strictes et des autres sécrétants des enzymes exogènes.

Les champignons charticolles peuvent être classés en deux groupes suivant l'aspect des colonies formées sur le papier : Une fois, la lésion du papier et la colonie du champignon ont la même dimension et se superposent directement. Dans d'autres cas, la colonie mycélienne occupe seulement le centre de la lésion, celle-ci prend cependant des dimensions beaucoup plus étendues.

Les champignons sont généralement fixés de deux façons sur le papier. Les uns poussent directement en surface. Ces organismes se développent sur le papier au moyen d'appareils reproducteurs asexués d'origine externe (Aspergillées). Les autres parasites sont fortement attachés et enfouis dans les fibres cellulosiques (Cladosporium ou Monilia).

Les champignons à pouvoir cellulolytique prononcé isolés par nous ont été identifiés. Il s'agit de :

Cladosporium herbarum, var. cellulosae. (Pers).
Aspergillus fumigatus, var. cellulosae. Hopf.
Fusarium cœruleum (Lib.) Sacc.
Actinomycès cellulosae Krainsky.
Monilia cellulosophaga n. sp.

Nos recherches chimiques nous ont montré :

1° Le Cladosporium assimile la cellulose le plus intensément dans un milieu ne contenant aucun autre hydrate de carbone et renfermant comme source d'azote un sel minéral sous forme d'ion acide.

L'Aspergillus se comporte de la même façon.

Le Fusarium par contre présente dans ces conditions un pouvoir cellulolytique faible.

La présence d'azote organique sous forme de peptones diminue sensiblement le pouvoir cellulophage du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais augmente celui du Fusarium.

La présence d'azote organique sous forme de gélatine pure seule n'influence pas sensiblement le pouvoir cellulolytique du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais augmente l'assimilation cellulosique du Fusarium.

La présence de sucre dans le milieu gélatiné exerce une action inhibitrice sur le pouvoir cellulolytique du Cladosporium et de l'Aspergillus, mais une action favorisante sur la destruction cellulosique par le Fusarium.

Le pouvoir cellulolytique de l'Actinomycès et du Monilia reste identique dans les différentes conditions expérimentales de culture. Les deux organismes sont des destructeurs cellulosiques très marqués.

La décomposition de la cellulose est produite par le Cladosporium, l'Aspergillus et le Fusarium au moyen d'enzymes endogènes. Leur pouvoir cellulolytique s'arrête au moment

de l'inhibition de la croissance et du développement des champignons.

Cladosporium et Aspergillus sont cellulophages au moyen d'éléments morphologiques de souffrance. Leur pouvoir cellulolytique est très limité et accidentel, car la présence de substances nutritives, telles que gélatine et sucre, se trouvant généralement dans les papiers, empêche la production d'éléments cellulasogènes.

Le Fusarium attaquant la cellulose à l'aide de filaments mycéliens morphologiquement normaux, est un véritable parasite du papier. Sa production de cellulase est directement proportionnelle à la présence de produits nutritifs protéidiques et hydrocarbonés. La dégradation de la cellulose par ces trois organismes est incomplète et s'arrête prématurément. Leur action cellulolytique se manifeste suivant un cycle homogène.

La destruction de la cellulose par l'Actinomycès et le Monilia est plus parfaite, car après 150 jours d'expérimentation, on ne constate aucun signe d'arrêt du pouvoir cellulophage.

L'action cellulolytique des deux organismes se manifeste suivant un cycle rythmique et progressivement continue et leurs propriétés biogénétiques semblent s'adapter aux conditions physico-chimiques externes, résultant de l'action assimilatrice des deux champignons en présence de cellulose.

Nos résultats au moyen de méthodes chimiques et ceux obtenus par nos recherches microscopiques sont concordants:

Les véritables agents destructeurs de la cellulose des différents papiers examinés semblent bien être :

l'Actinomycès cellulosae Krainsky, Monilia cellulosophaga n. sp., et Fusarium cœruleum (Lib.) Sacc.

Quant aux Cladosporium herbarum, var. cellulosae et Aspergillus fumigatus Hopf, var. cellulosae, nous avons pu montrer que ce sont des parasites accidentels du papier, car leur pouvoir cellulophage est diminué en présence des colles et des matières ternaires nutritives utilisées dans la fabrication papetière.

Nos recherches sommaires sur les produits intermédiaires et finaux de la désassimilation cellulosique, ne nous ont pas

permis de mettre en évidence des monoses ou des bioses, ni des tannins, ni de la lignine.

Nous croyons par contre avoir pu démontrer la formation d'acide oxalique et des produits de transformation de la lignine à caractère humique.

Dans la première partie de notre travail, nous avons exposé très en détail les procédés de fabrication du papier. Nous avons à plusieurs reprises pu visiter les usines qui ont mis à notre disposition les échantillons de papier parasité. Nos recherches ont permis de déceler trois phases ou temps principaux pendant la fabrication du papier, intervenant dans la contamination de celui-ci :

1° Préparation des colles insuffisamment désinfectées;

2° Lavage de la pâte blanchie au moyen d'eaux polluées;

3° Séchage des papiers collés et humectés dans des séchoirs à forte aération sans dispositif pour stériliser l'air.

Nous avons montré en collaboration avec notre cher Maître et ses élèves qu'on peut supprimer aujourd'hui tout danger de contamination par le premier facteur en employant un mélange d'antiseptiques dont on a étudié avec tous les soins le pouvoir microbicide.

Il ressort d'autre part de notre travail que le troisième facteur de contamination du papier par les microorganismes cellulophages est le moins à craindre. Les germes des Périsporiacées, des Cladosporées qui prennent sûrement avec les Oomycètes la plus grande place dans la flore de l'air humide, ne deviennent qu'accidentellement cellulolytiques et doivent être considérés seulement comme parasites des papiers collés, attaquant les couches gélatineuses superficielles.

En employant les antiseptiques étudiés et déterminés par A. Sartory et ses élèves, la détérioration des matières gélatineuses collant les fibres cellulosiques n'est plus à craindre.

Il ne reste donc que le deuxième facteur de contamination : Lavage des pâtes blanchies au moyen d'eaux polluées. En effet, ce sont des eaux de rivière qui sont le plus souvent employées, elles sont chargées suivant les saisons de germes plus ou moins dangereux. Nos prélèvements répétés au cours de trois ans, nous ont montré que pendant l'hiver et le prin-

temps les contaminations par l'Actinomycès sont les plus fréquentes. Celui-ci existe cependant aussi en été encore dans les eaux des usines papetières. En été et en automne le Monilia et le Fusarium dominent et dans les eaux de lavage et dans les papiers fabriqués pendant ces périodes. Ce fait peut s'expliquer par l'augmentation de ces germes à la suite de la floraison et de la fructification de plantes supérieures. Toujours est-il que l'industrie papetière peut facilement supprimer les dangers d'infection au moment de la fabrication et de destruction ultérieure des papiers stockés, en employant uniquement des eaux de lavage stérilisées par le passage à travers le filtre de sable à couche suffisamment épaisse ou par la verdunisation préalable.

Nous croyons ainsi avoir apporté par notre modeste travail une contribution utile et d'un intérêt pratique à la fabrication du papier, tout en apportant un peu de lumière sur les particularités de l'attaque biologique des fibres cellulosiques par les champignons, sur le préjudice qu'occasionne celle-ci plus tard sur la fibre, sur le degré de décomposition subie par la cellulose et sur la nature des produits de cette décomposition.

Notes bibliographiques

57 Antonioli (M.) : Contribution à l'Étude des Actinomycès. *Thèse, Strasbourg* 1932.

31 Appel (Otto) : Beiträge zur Kenntnis der Fusarium und der von ihnen hervorgerufenen Pflanzenkrankheiten. *Arbeiten aus der biolog. Abteil. für Land- und Forstwirtschaft*, Bd. 5, Heft 4, Berlin, 1906, p. 155.

49 Appel et Wollenweber : Grundlage einer Monographie der Gattung Fusarium. *Arbeiten aus der biolog. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft*, Bd. VIII, Heft 1, Berlin 1910, S. 5; *idem.* S. 102.

12 Bary (de) : *Bot. Zeit.*, 1886, Bd. 44, p. 377.

30 Behrens (J.) : Beiträge zur Kenntnis der Obstfäulnis. Landwirt. bot. Versuchsanst. Karlsruhe. *Centralbl. f. Bakt. u. Par.*, Bd. 4, 1897, p. 514.

53 Beijerinck : *Botan. Zeitung* 1891, p. 726.

26 Beijerinck et Winkmann : *Centralbl. f. Bakt. u. Par.*, II, 1910, Bd. 25, p. 30.

13 Berthelot (M.) : Remarques sur la fermentation forménique. *C. R. Ac. Sc.*, 1889, 109, p. 841. — *Bull. Soc. Chim.*, 1890, 3, p. 331.

51 Blochwitz (A.) : Die Aspergillaceen; System und Phylogenie. *Annales Myc.*, vol. XXVII, 1929.

46 Boas : Ernährungsphysiologie einiger Pilze : *Ann. Mycol.*, vol. XVI, 1918.

38 Carbone et Marincola-Cattaneo : *Archivio di Farmcolog. Speriment.*, vol. III, 1908, p. 39. Ref. — *Zentralblatt f. Bakt. u. Pars.*, II, 1909, Bd. 23, p. 239.

5 Chenevier (Robert) : La France doit avoir une politique de la cellulose. *La science et la vie*, n° 203, mai, 1934, p. 368.

56 Cohn (F.) : Beiträge zur Biologie der Pflanzen, Breslau 1875.

50 Constantin et Lucet : Voir Sartory (A.) : Champignons parasites de l'homme et des animaux. *Le François, Paris* 1923, p. 785.

15 Deherain (P.-P.) : Sur la fabrication du fumier de ferme. *C. R. Ac. Sc.*, 1884, 98, p. 377.

64 Dmoschowski et Tollens (B.) : Ueber eine Methode der quantitativen Cellulosebestimmung. *Journ. Landwirt.*, 1910, 58, p. 1.

8 Drechsel : Mikroskopische u. chemische Untersuchungen über die Zerstörung von rohen u. gebleichten Cellulosen. *Papierfabrikant* nº 45, 46, 50, 1930; nº 1, 1931.

40 Ellenberger (W.) : Zur Frage der Cellulosenverdauung. *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, 1915, 1916, Bd. 96, p. 237.

37 Fröhlich : *Jahrbuch f. wissenschaftl. Botanik*, 1908, Bd. 45, p. 256.

39 Fousek : *Mitteilungen der Hochschule für Bodenkultur, Wien*, 1, 1912, p. 217.

14 Guyon : Recherches sur la fermentation du fumier. *C. R. Ac. Sc.*, 1884, 98, p. 528.

36 Haumann : *Annales de l'Institut Pasteur*, 1902, vol. 16, p. 379.

27 Heinze : *Zentralbl. f. Bakt.* 11, 1903, Bd. 10, p. 601.

35 Heller (F.) : Untersuchungen über Celluloseabbau durch Pilze. *Diss. Rostock*, 1917.

62 Hellriegel et Lucanus : Ueber den Nährwert des Brühhäckels. *Landwirt. Versuchs-Stat.*, 1865, 7, p. 242.

60 Henneberg : *Handbuch der Gärungsbakteriologie*, 1, 1926, p. 58.

54 Hiltner : Hiltner u. Strömer : *Arbeiten a. d. biol. Abt. d. kais. Gesundheits-Amts.* 1903.

42 Hoppe (Anna) : Bakteriologische Untersuchungen über die Celluloseverdauung. *Zentralblatt f. Bakt. u. Par.*, I, 1919, 83, p. 376.

18 Hoppe-Seyler (F.) : Gärung der Cellulose. *Ber. der deutch. chem. Gesellsch.*, Bd. 16, 1883, I, S. 122.

— Ueber die Gärung der Cellulose mit Bildung von Methan u. Kohlensäure. *Zeitschr. f. Physiol. Chem.*, 1886, 10, p. 401.

16 Holdefleiss et Schönfelder : Mitteilungen des landwirt. Institut, Breslau, 3, 1900, p. 49.

24 Iterson (C. van) : Die Zersetzung von Cellulose durch aerobe Mikroorganismen. Verslag der koniglijke Akademie van Wetenschapen te Amsterdam. Deel XI, 1903, p 807 Cité et traduit dans *Zentralblatt f. Bakt. u. Par.*, II, 1904, Bd. II, p. 689.

63 Kniriem (W. von) : Ueber die Verwertung der Cellulose im tierischen Organismus. *Zeit. f. Biol.*, 1885, 21, p. 67.

65 Kœnig (J.) : Bestimmung der Cellulose, des Lignins u. Kutins in der Rohfaser. *Zeitschrift f. Untersuch. der Nähr. u. Genuss.*, 1906, (2), 12, p. 385.

47 Kumagawa-Suto : *Bioch. Zeitschrift*, 1908, VIII, Bd., p. 212.

59 Langeron : Les Actinomycoses. *Nouveau traité de médecine, Roger Widal*, Fasc. IV, 2e édition, Paris, Masson 1925.

52 Langeron et Talice : Nouvelles méthodes d'étude et essai de classification des champignons levuriformes. *Ann. de Par. hum. et comparée*, tome X. I., janvier 1932, nº I, p. 1 et suivantes.

7 Löhnis : Vorlesungen über landwirtschaft. Bakteriologie, 1926, p. 175.

21 Mac Fayen (A.) et Blaxall (F.-R.) : Thermophilic Bacteric, Tr. of Jenner Just. prev. med., 1899, p. 162.

17 Mayer (A.) : *Deutsche landwirt. Tierzucht*, 10, 1906, p. 44.

45 Matruchot (Louis) et Sée (Pierre) : Action de la chloropricrine sur des moisissures diverses. *C. R. S. Biologie*, t. XVVVIII, 1920, p. 170.

9 Mitscherlich : Ueber die Zusammensetzung der Wand der Pflanzenzelle. *Annales Chem. u. Pharm.*, 1850, 75, p. 305. (*Monatsberichte d. Berl. Akad.*, 1850.)

58 Monal (P.) : Contribution à l'étude des Actinomycès. *Thèse, Strasbourg* 1933.

29 Mutterlein (C.) : Studien über die Zersetzung der Cellulose im Dünger u. im Boden. *Diss. Leipzig*, 1913.

55 Neukirch : Ueber Strahlenpilze (Actinomyceten). *Thèse, Strasbourg* 1902.

22 Omélianshy (V.) : *C. R. Ac. Sc.* t. X XI, p. 653; t. 125, 1897, p. 970, 1131.

— *Centralbalatt f. Bakt. u. Par.*, 21, 1902, Bd. 8, p. 193, 225, 257, 289, 321, 353, 385.

— *Centralblatt f. Bakt. u. Par.*, 21, 1903, Bd. 11, p. 369

— *Centralblatt f. Bakt. u. Par.* 21, 1904, Bd. 12, p. 33.

— *Centralblatt f. Bakt. u. Par.* 21, 1905-1906, Bd. 15, p. 678.

— *Lafars Handbuch der techn. Mycologie Jena*, 1904-1906, Bd. 3, p. 245.

— Zur Frage der Cellulosegärung. *Centralblatt f. Bakt. u. Par.*, II, 1913, 36, p. 472.

10 Popoff (L.) : Ueber Sumpfgasgärung. *Archiv f. ges. Phys.*, 1875, 10, p. 113.

28 Pringsheim (H.) : Ueber den fermentativen Abbau der Zellulose. *Zeitsch. f. Physiol. Chem.*, 1912, Bd. 78, S. 266.

— Ueber die Vergärung der Cellulose durch thermophile Bakterien. *Centralbl. f. Bakt. u. Par.*, II, Bd. 14, 1913, 38, p. 513.

48 Rabenhorst : *Kryptogamen Flora I.* Bd. VIII, Abt., p. 800. — *Idem.*, Bd. IX, Abt., p. 574.

1 Richter (Geo.-A.) : La permanence de pâte de bois purifiée. « *Le papier* », mars 1932.

3 Robert (Louis) : L'invention des machines à fabriquer du papier, 1792.

25 Rossi, Grazia de Capraris : Zelluloselösung durch aerobe Bakterien. *Ref. Centralblatt f. Bakt. u. Par. II*, Bd. 14, 1905, p. 529. — *Idem., Centralblatt f. Bakt. u. Par. II*, Bd. 15, 1905, p. 212.

2 SARTORY (R.) : Etude de la dégradation de la cellulose chez quelques insectes xylophages sous l'influence de microorganismes. *Thèse, Strasbourg* 1929.

46b SARTORY (A. et R.) et MEYER (J.) : Etude botanique et biochemique d'un Cladosporium (Cladosporium Rietmann), agent d'une Epidermomycose Palmaire noire du Brésil. « *Strasbourg médical* », nº 18, 25 juin 1930.

34 SCHAFFNIT (E.) : Der Schneeschimmel u. die übrigen durch Fusarium nivale hervorgerufenen Krankheiten des Getreides, Abt. f. Pflanzenkrankheiten d. landwirtsch. Inst. Bromberg. *Landwirt. Jahrbuch*, Bd. 43, 1912.

41 SCHEUNERT (A.) : Ueber die Celluloseverdauung bei den Haustieren. III. Mitteilungen, Berlin. *Tierärztl. Woch.*, 1910, nº 5, p. 113.

— Beiträge zur Kenntnis des Celluloseverdauung im Blinddarm u. des Enzymgehaltes des Caekalsekretes. *Zeitschrift f. Phys. Chemie*, 1906, 48, p. 9.

33 SCHELLENBERG (H.) : Untersuchungen über das Verhalten einiger Pilze gegen Hemicellulose. *Flora*, 1908, Bd. 98, p. 258.

32 SCHIKORRA (G.) : Fusariumkrankheiten der Leguminosen. *Arb. aus der biol. Abt. f. Land- u. Forstwirtschaft*, 1906, Bd. V, Heft 4, p. 157.

19 SCHLŒSSING (Th.) père : Sur la fermentation forménique du fumier. *C. R. Ac. Sc.*, 1889, 109, p. 835.

44 SÉE (Pierre): Ueber Schimmelpilze, welche die Veränderung des Papiers verursachen. *Compt. rd. Acad. Sciences*, 164 (230-239), 1916. — *Idem., Wochenblatt für Papierfabrikation*, 51, 861 (1919; *Papierzeitung*, 45, 73) (1920).

20 SENUS (A. C. H. van) : Bijdrage tot de Kennis der Cellulose gisting, Leyden, 1890.

66 SIMON (O.) et LOHRISCH (H.) : Eine neue Methode der quantitativen Cellulosebestimmung in Nahrungsmitteln u. Faeces. *Zeitschrift f. Physiol. Chemie*, 1904, 42, p. 55.

11 Tappeiner (H.) : Ueber Cellulosegärung. *Ber. d. deutsch. chem. Gesell.*, 1882 (1), 15, p. 999, 1883, (2), 16, p. 1734.

— Ueber die Gärung der Cellulose, insbesondere über deren Lösung im Darmkanal. *Zeitschr. f. Biol.*, 1884, 20, p. 52.

— Nachträge zu den Untersuchungen über die Gärung der Cellulose. *Zeitschr. f. Biol.*, 1883, 24, p. 105.

43 Waksmann (Waksmann et Dubos) : Ueber die Natur der Organismen, die in anbaufähigen Böden Cellulose zersetzen. *Compt. rd. hebd. d. Sc. d. l'Académie d. Sc.*, 185, 226 (1927).

61 Weende : Voir Henneberg et Stohmann (J.) : Beiträge zur Begründung einer rationellen Fütterung der Wiederkäuer. *J. f. Landwirt.*, 1859, p. 361; 1860, Heft 1, 1864, Heft 2.

6 Widder (Alex.) : L'Action inhibitrice et destructrice de différents antiseptiques sur les champignons cellulophages, parasites du papier. *Thèse, Strasbourg* 1933

4 Wiesner : Voir Chenevier.

23 Winogradsky : *Centralblatt f. Bakt. u. Par.*, II, 5, 1899, p. 334.

Table des Matières

Pages

Introduction 1

Première Partie

Chapitre I. La fabrication du papier 5
Chapitre II. La dégradation de la cellulose par des champignons inférieurs 15

Deuxième Partie

TRAVAUX PERSONNELS

Chapitre I. Méthodes employées pour isoler les champignons « charticolles », leur étude botanique 31

Chapitre II. Reproduction expérimentale des altérations des papiers par ensemencement en cultures des champignons cellulophages 59

Chapitre III. Technique et méthodes employées pour les recherches de l'assimilation de la cellulose 75

Chapitre IV. Résultats expérimentaux 81

Chapitre V. Recherches des produits intermédiaires de l'assimilation cellulosique 93

Conclusions générales 95

Notes bibliographiques 101

Table des matières 107

Vu :

Strasbourg, le 25 octobre 1934

Le Président du Jury,

A. SARTORY

Vu et approuvé :

Strasbourg, le 31 octobre 1934

Le Doyen de la Faculté de Pharmacie,

J. E. LOBSTEIN

Vu et permis d'imprimer :

Strasbourg, le 3 novembre 1934

Le Recteur de l'Académie,

Président du Conseil de l'Université,

J. DRESCH

IMPRIMERIE DES DERNIÈRES NOUVELLES DE STRASBOURG